

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2002 年 7 月 4 日 (04.07.2002)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 02/051797 A1

(51) 国際特許分類: C07C 245/08, C07D
269/06, 271/20, 221/14, 311/08, 311/12, 311/80, 475/14,
491/22, 495/04 // C09B 69/10

BIOSYSTEMS JAPAN LTD.) [JP/JP]; 〒104-0032 東京
都中央区八丁堀4丁目5番4号 秀和桜橋ビル Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/08120

(72) 発明者; および

(22) 国際出願日: 2001 年 9 月 19 日 (19.09.2001)

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 池田壽文 (IKEDA,
Hisafumi) [JP/JP]; 〒270-0115 千葉県流山市江戸川台
西3丁目31番地1号 エステート江戸川台8棟307号 Chiba
(JP). 齋藤 烈 (SAITO, Isao) [JP/JP]; 〒607-8242 京都
府京都市山科区勤修寺柴山1-21 Kyoto (JP). 北川文彦
(KITAGAWA, Fumihiko) [JP/JP]; 〒452-0802 愛知県名
古屋市西区比良1丁目269番地2号 サンパレス501号
Aichi (JP).

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

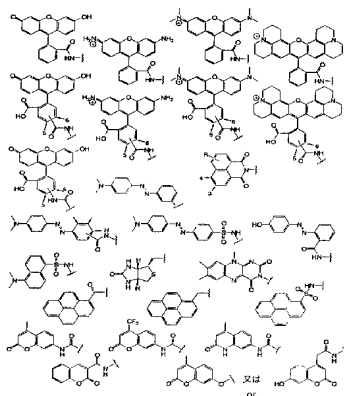
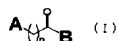
(30) 優先権データ:
特願 2000-394669
2000 年 12 月 26 日 (26.12.2000) JP

(74) 代理人: 弁理士 葛和清司 (KUZUWA, Kiyoshi); 〒
160-0003 東京都新宿区本塩町19番地 AOIビル 葛和国
際特許事務所 Tokyo (JP).

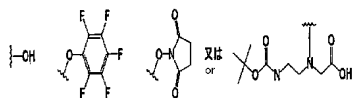
[続葉有]

(54) Title: NOVEL FUNCTIONAL PEPTIDE NUCLEIC ACID MONOMER AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

(54) 発明の名称: 新規な機能性ペプチド核酸モノマーとその製法



(57) Abstract: A compound represented by the following general formula (I)
(I) (wherein A is (1) or (2) B is (3) or (4) R is hydrogen, NO₂, NH₂, NHCbz,
bromine, fluorine, chlorine, or SO₃Na₂; and n is an integer of 1 to 4); and
a process for producing the compound, characterized by comprising reacting
an active ester with t-butoxycarbonylaminoethylamine or an ω-amino acid
derivative.



Fmoc 型 PNA モノマーユニット

Boc 型 PNA モノマーユニット

Fmoc-TYPE PNA MONOMER UNIT

Boc-TYPE PNA MONOMER UNIT

[続葉有]



(81) 指定国 (国内): JP, US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

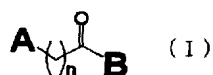
添付公開書類:

— 国際調査報告書

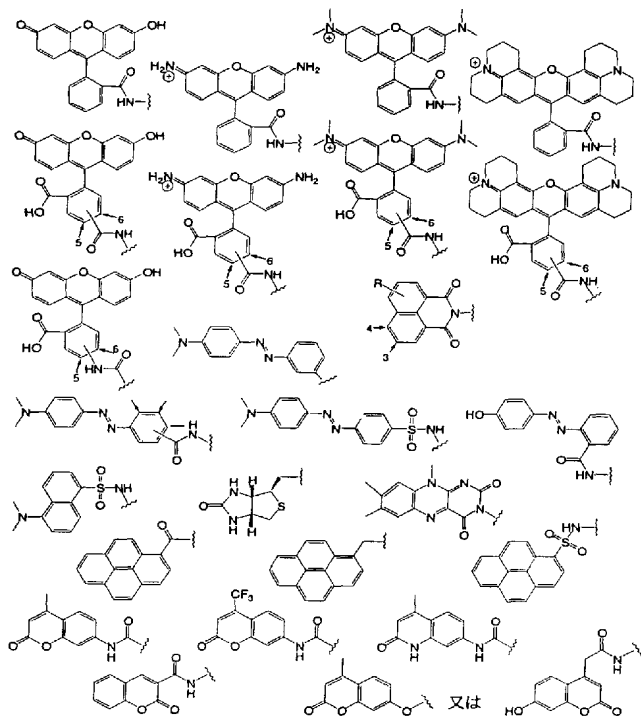
— 補正書

(57) 要約:

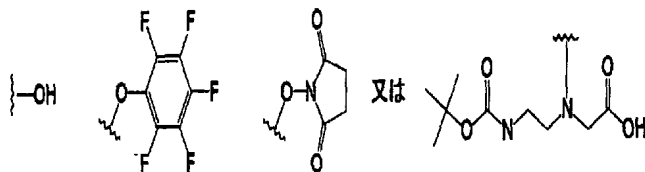
下記一般式 (I)



(式中、Aは



であり、Bは



であり、RはH、NO₂、NH₂、NHCH₂CH₂、Br、F、ClまたはSO₃Na₂であり、nは1～4の整数である)で表される化合物、および活性エステルとトポキシカルボニルアミノエチルアミンまたはω-アミノ酸誘導体との反応を含むことを特徴とする、前記化合物の製造方法。

明 細 書

新規な機能性ペプチド核酸モノマーとその製法

技術分野

本発明は、新規な構造を有する機能性ペプチド核酸モノマーおよびその製造方法に関する。

背景技術

核酸は生物の遺伝情報を司るDNAおよびRNAである。これに対して、ペプチド核酸（PNA）とは、核酸の糖リン酸骨格をN-(2-アミノエチル)グリシン骨格に変換した修飾核酸である（図1）。DNA/RNAの糖リン酸骨格は中性条件で負電荷を帯びていて相補鎖間の静電的な反発があるが、PNAの背骨構造はもともと電荷を持たないので静電的な反発がない。そのためPNAは従来の核酸と比較して、高い二重鎖形成能をもち、高い塩基配列認識能を持つ。さらにPNAは生体内ヌクレアーゼ・プロテアーゼに対し非常に安定で分解されないので、アンチセンス分子として遺伝子治療に応用することが検討されている。

従来のDNAを媒体にしていた技術をPNA化することにより、これまで克服できなかったDNAの欠点を補うことが可能となった。例えば、遺伝情報の体系的な解析を高速に且つ大量に行うための「DNAマイクロアレイ技術」および塩基配列を特異的に認識したことを蛍光発光により検出できるプローブとして最近開発された「モレキュラービーコン」に応用することが可能である。これらはいずれも酵素耐性に乏しいDNAを媒体とするため、これらの技術を用いるに際しては厳密なサンプリングが要求される。この要求を満たすことが、前記の技術を高度化する上での鍵となっている。

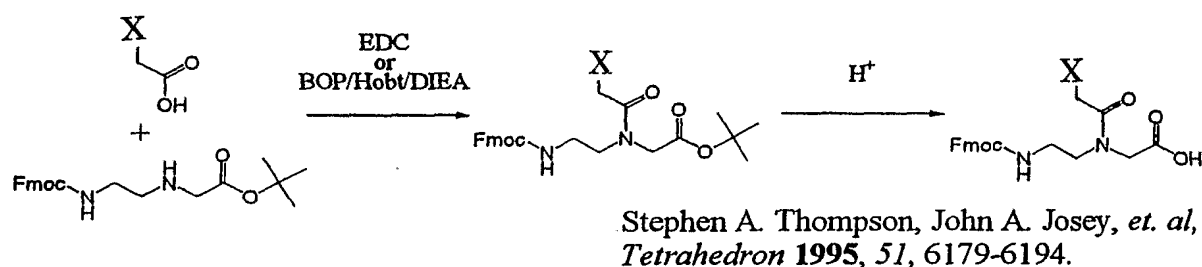
一方PNAは酵素に対し完全な耐性を持つので、DNAマイクロアレイ技術およびモレキュラービーコンにおいてPNAをDNAに代用することによって、前記技術の欠点が克服され、さらに長所が引き出されるものと期待されている。

DNAマイクロアレイ技術およびモレキュラービーコン以外にもPNA化する

ことにより発展が期待される分野は数多いが、それらにおいてはPNAの効率的な機能化、すなわちPNAモノマーへの機能性分子の効率的な導入による新規なPNAモノマーの設計が必要である。

PNAオリゴマーの合成方法には通常の固相ペプチド合成法を用いるので、PNAモノマーユニットをPNAの背骨構造によって分類すると、Fmoc型PNAモノマーユニットとtBoc型PNAモノマーユニットの2種類が含まれる(図2)。

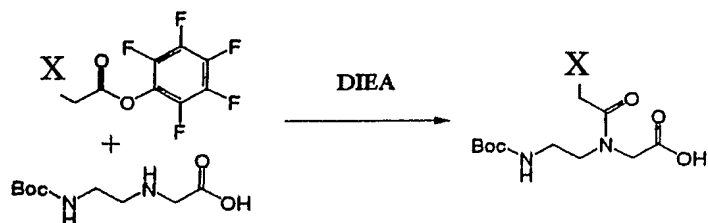
Fmoc型PNAモノマーユニットの合成方法は既に確立されており、しかもそのオリゴマーの合成は一般的なDNA自動合成機によって可能であるため、下記のルート



(Xはグアニン、チミン、シトシンまたはアデニンを表す)

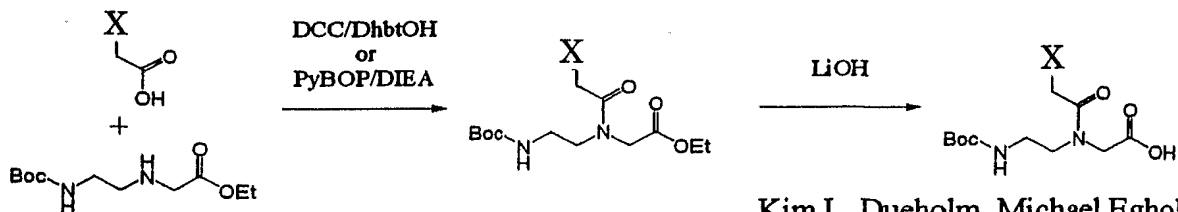
によって、少量スケールでの合成が可能となっている。

当初PNAには下記のようなtBoc型PNAモノマーユニット



Michael Egholm, Ole Buchardt, Peter E. Nielsen, and Rolf H. Berg
J. Am. Chem. Soc. **1992**, *114*, 1895-1897.

が採用され、その後より効率のよい合成方法



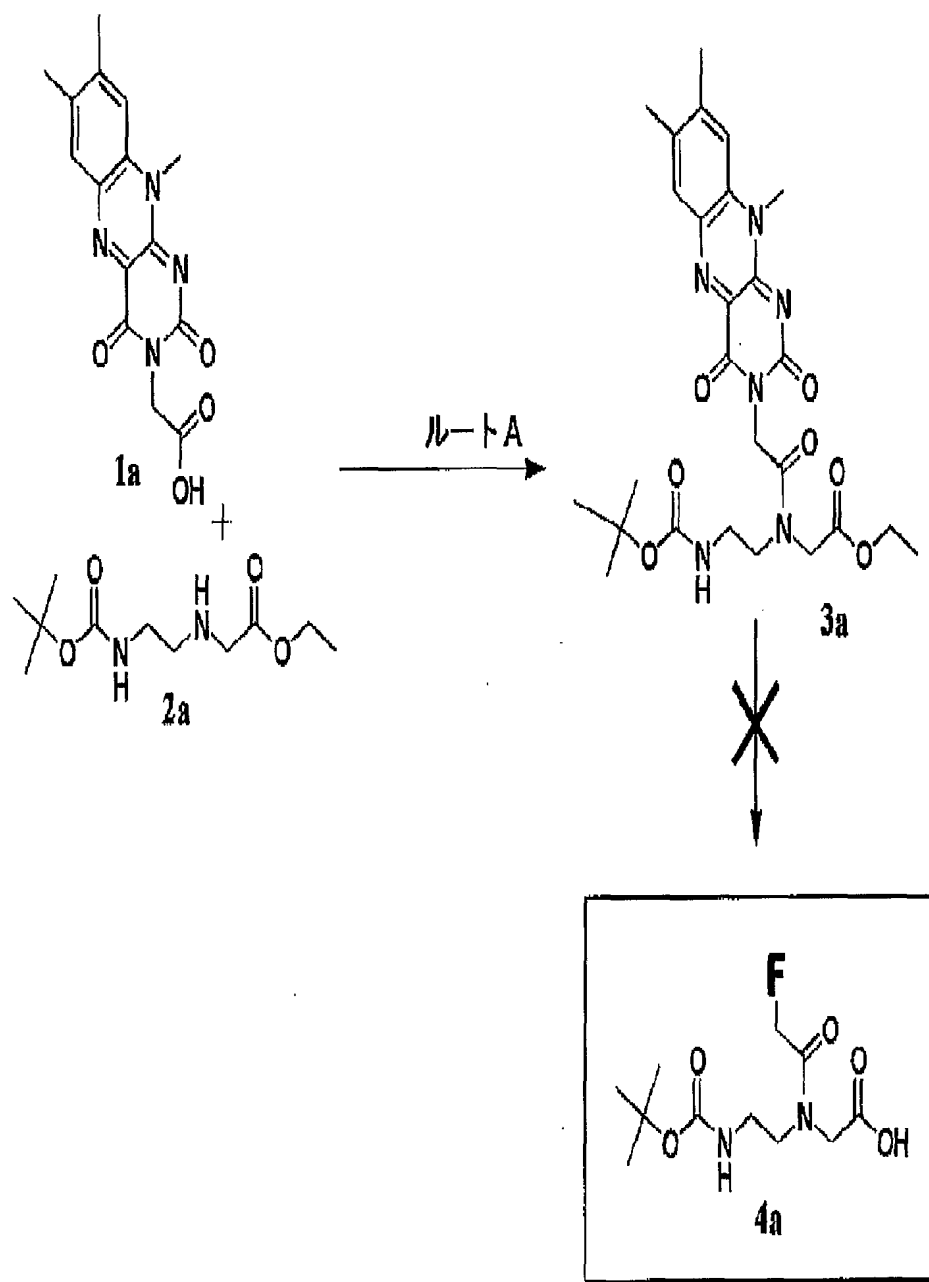
Kim L. Dueholm, Michael Egholm, et. al,
J. Org. Chem. **1994**, *59*, 5767-5773.

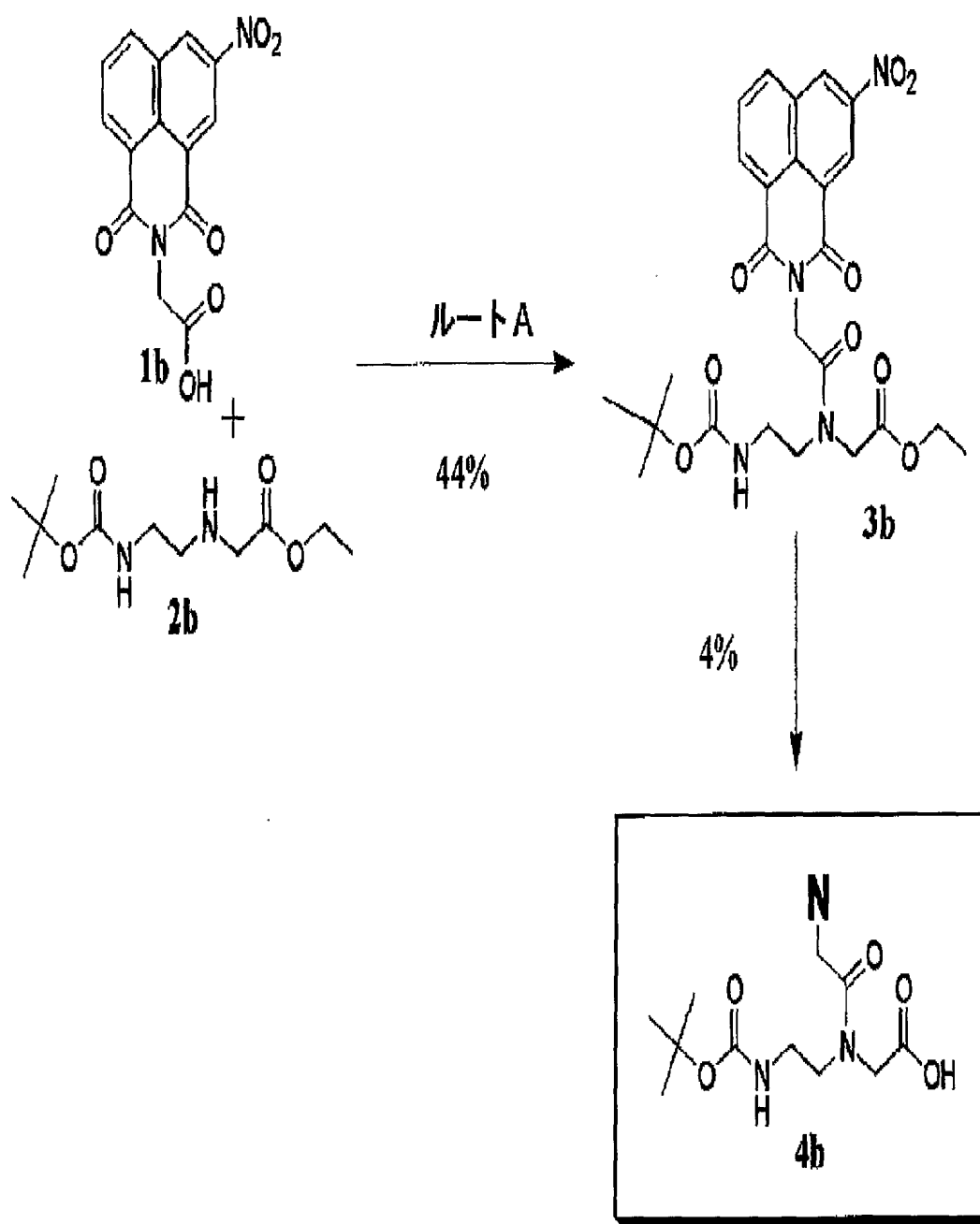
が確立された。しかし、前述したように取り扱いが容易な F m o c 型が開発されたため、t B o c 型の使用頻度は減少している。

しかし、グアニン・チミン・シトシン・アデニン 4 種類の核酸塩基以外の機能性分子を導入する際、例えば光機能性分子を導入する際には、導入する機能性分子がアルカリ条件に不安定な場合が多いので、アルカリ条件を使用しない t B o c 型 P N A 背骨構造の有用性は高い。「トートキシカルボニルアミノエチルアミン及びアミノ酸誘導体の製造方法」に関しては、本発明者らが特願 2 0 0 0 - 2 6 8 6 3 8 として既に特許出願中である。

これ以外にも、光機能性オリゴ P N A のモノマーユニットの合成例は過去に 5 例が知られている。これら全てが上記ルートを用いているが、その収率については記載がないか、または極めて低いものでしかない (Peter E. Nielsen, Gerald Haa

iman, Anne B. Eldrup PCT Int. Appl. (1998) WO 985295 A1 19981126, T. A. Tran, R.-H. Mattern, B. A. Morgan (1999) J. Pept. Res, 53, 134-145, Jesper Lohse et al. (1997) Bioconjugate Chem., 8, 503-509, Hans-georg Batz, Henrik Frydenlund Hansen, et al. Pct Int. Appl. (1998) WO 9837232 A2 19980827, Bruce Armitage, Troels Koch, et al. (1998) Nucleic Acid Res., 26, 715-720, Hans-georg Batz, Henrik Frydenlund Hansen, et al.)。また、用いられる化合物の構造がアルカリ性条件に比較的安定であることが特徴的であるため、アルカリ性条件に不安定な発色団が付くと、前記従来法と類似の方法、すなわち下記ルートA





では効率良く合成できないと予想される。

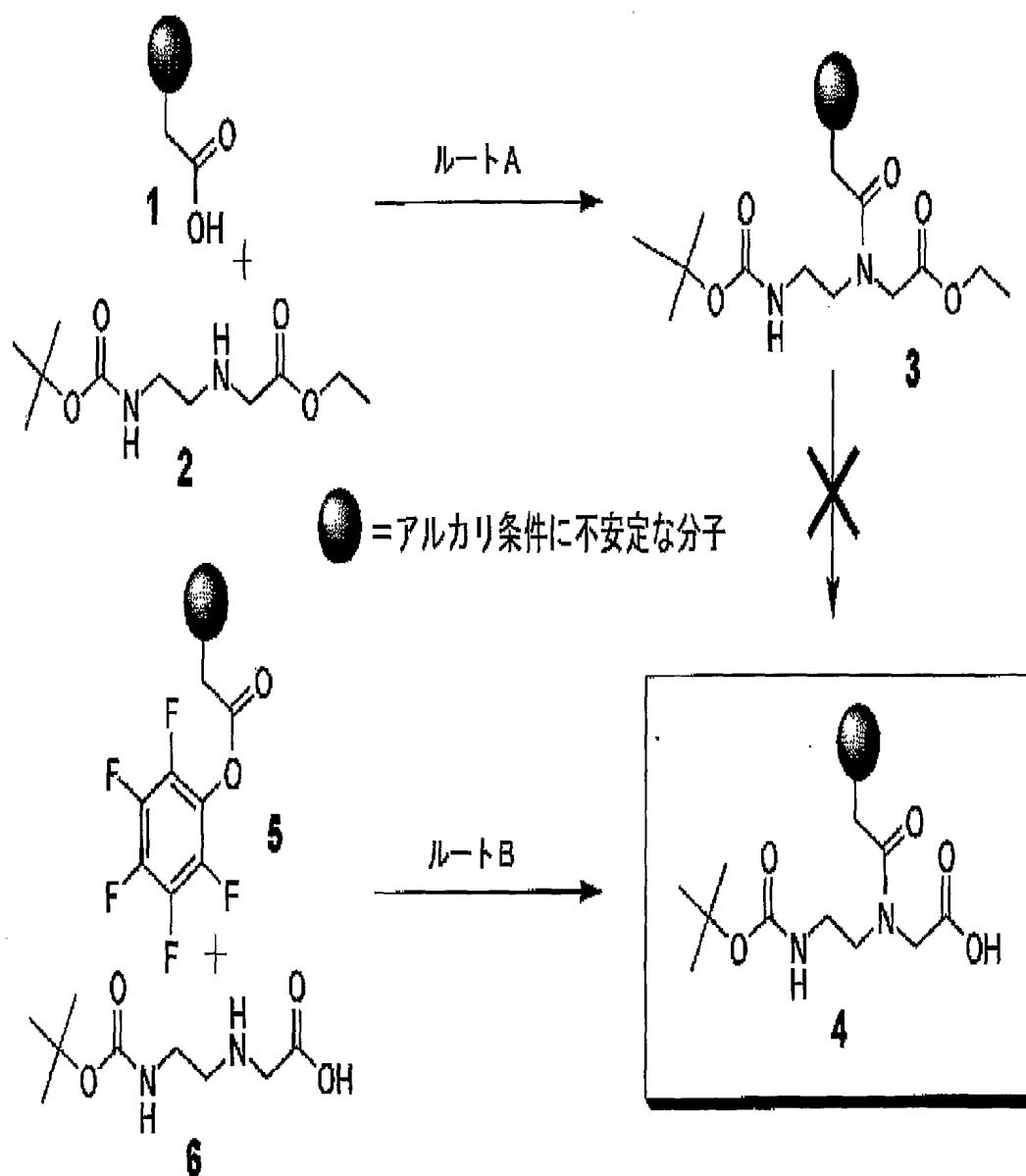
そのため、例えば光機能性PNAモノマーのような機能性PNAモノマーの開発とともに、PNAモノマーを効率的に機能化する技術の確立が強く望まれている。

る。

発明の開示

したがって、本発明は、上記の問題を解消した新規な機能性PNAモノマーおよびその効率的な合成方法の提供を目的とする。

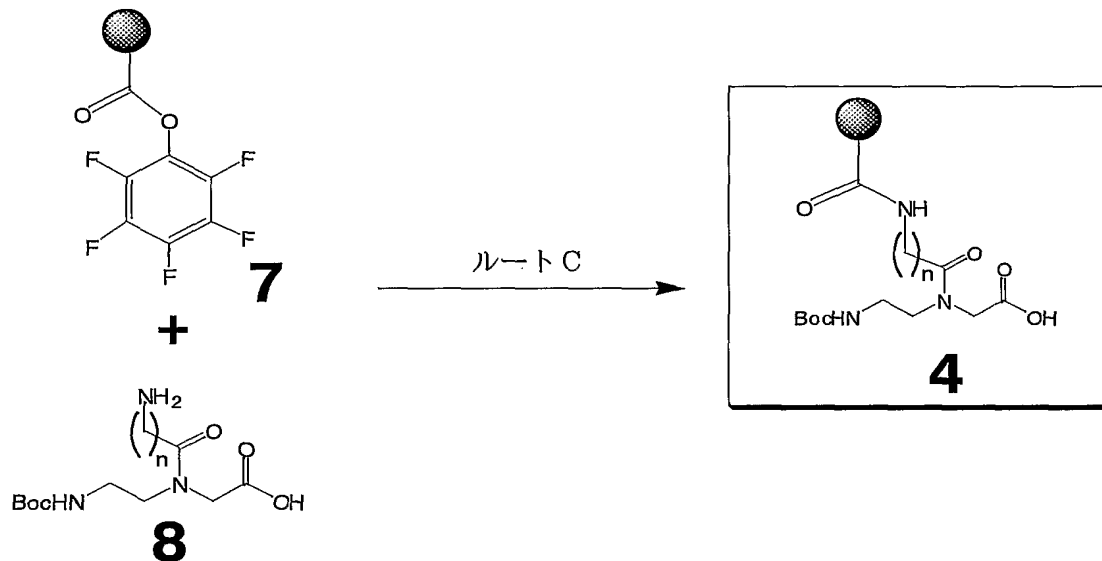
本発明者らは上記課題を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、下記ルートB



に示すように、PNA背骨構造にもーブトキシカルボニルアミノエチルアミン誘

導体6を用いて1のペンタフルオロフェニル基を含む活性エステル体5と縮合してほぼ定量的に光機能性PNAモノマー4を合成することに成功した。

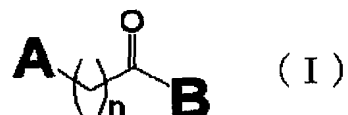
さらに本発明者らは、下記ルートC



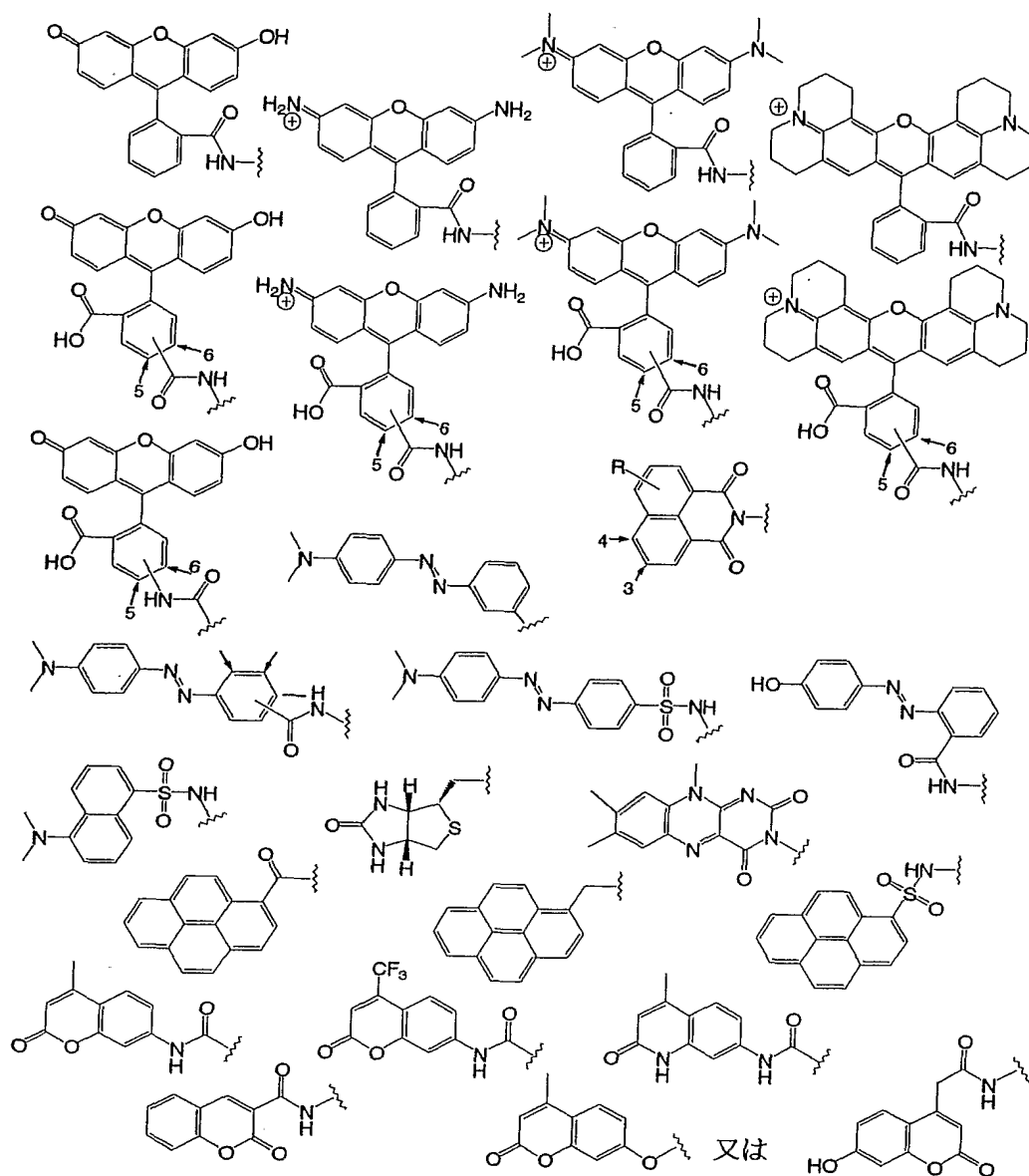
に示すように、PNA背骨構造にω-アミノ酸誘導体8を用いて1のペンタフルオロフェニル基を含む活性エステル体7と縮合してほぼ定量的に光機能性PNAモノマー4を合成することにも成功した。

上記ルートBおよびCにより、本発明者らは、上記課題を解決することを見出し本発明を完成するに至った。

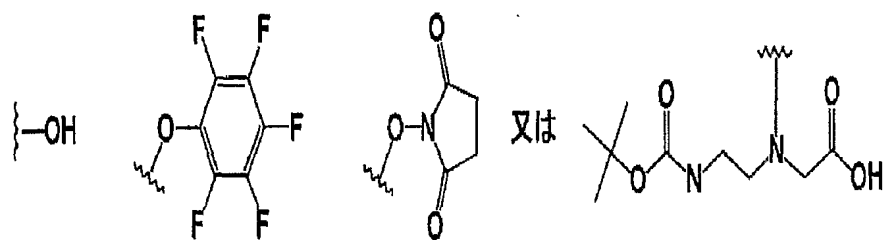
すなわち本発明は、下記一般式(I)



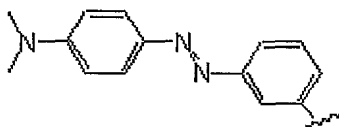
(式中、Aは



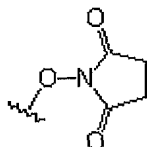
であり、Bは



であり、RはH、NO₂、NH₂、NHCHbz、Br、F、ClまたはSO₃Na₂であり、nは1～4の整数である。ただし、Aが



である場合、Bは



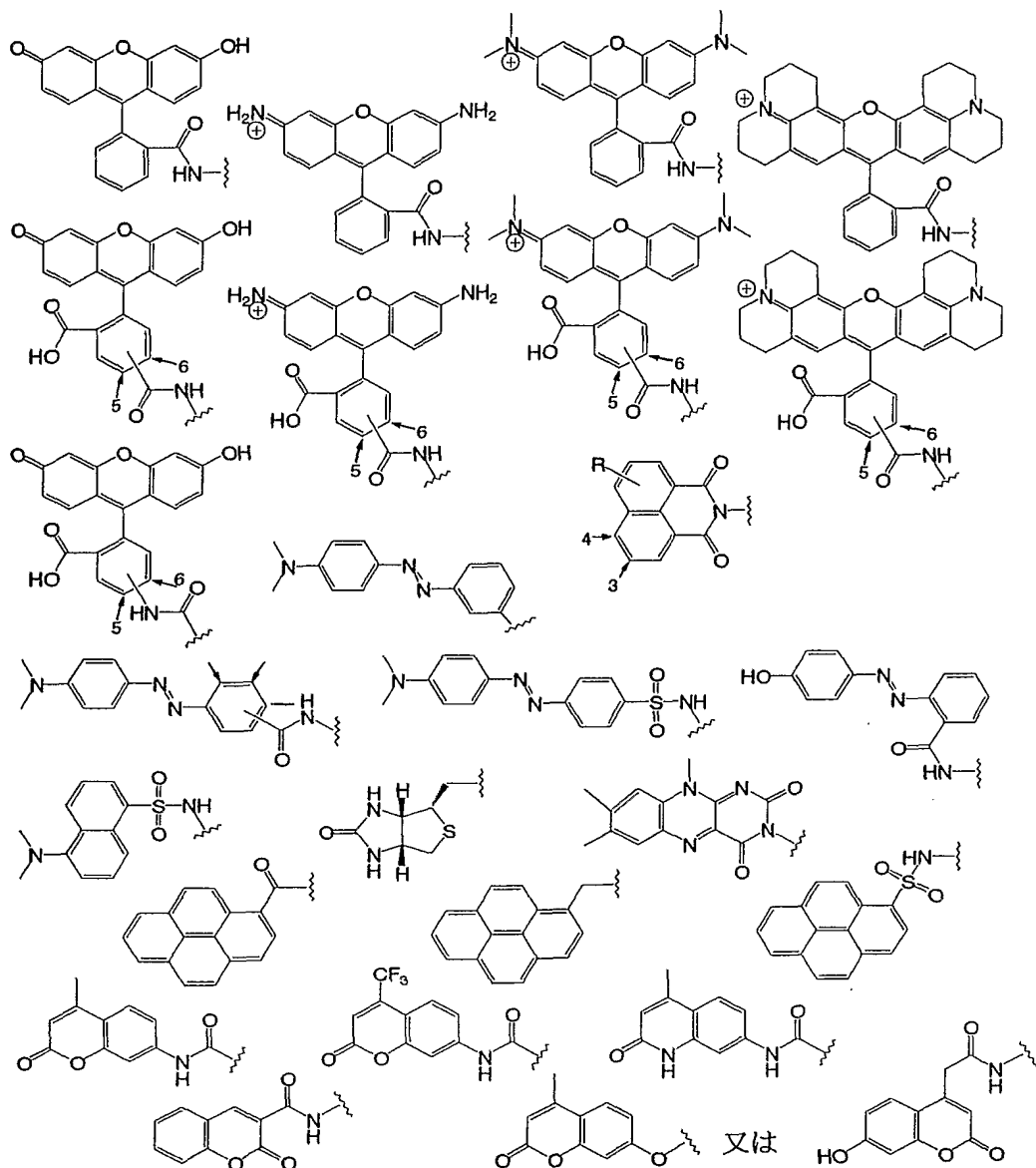
である)で表される化合物に関する。

また、本発明は、 α -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンを機能性分子の誘導体と反応させ、機能性分子をPNAモノマーに導入することよりなる機能性PNAモノマーの製造方法であって、該機能性分子の誘導体が活性エステルであることを特徴とする、前記製造方法に関する。

さらに、本発明は、活性エステルが、下記一般式 (II)



(式中、Aは



であり、RはH、NO₂、NH₂、NHCOCH₃、Br、F、ClまたはSO₃Na₂であり、nは1～4の整数である)

で表される基を、エステル結合を形成するカルボニル炭素に有することを特徴とする、前記製造方法に関する。

また、本発明は、活性エステルが、ペンタフルオロフェノキシ基またはスクシンイミドオキシ基をカルボニル炭素に有することを特徴とする、前記製造方法に関する。

さらに、本発明は、活性エステルを製造する方法であって、機能性分子のカル

ボン酸誘導体と、ペンタフルオロフェノキシ基またはスクシンイミドオキシ基を有する化合物との反応を含むことを特徴とする、前記方法に関する。

また、本発明は、機能性分子のカルボン酸誘導体を製造する方法であって、機能性分子の誘導体と脂肪族カルボン酸との反応を含むことを特徴とする、前記方法に関する。

またさらに、本発明は、機能性分子から該機能性分子の誘導体を製造し、該機能性分子の誘導体から機能性分子のカルボン酸誘導体を製造し、該機能性分子のカルボン酸誘導体から活性エステルを製造し、該活性エステルから機能性 P N A モノマーを製造することを含む、機能性分子から機能性 P N A モノマーを製造する方法において、下記 a) ～ c) :

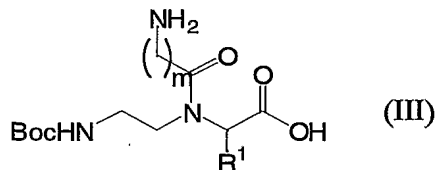
a) 前記機能性分子のカルボン酸誘導体の製造において、機能性分子の誘導体と脂肪族カルボン酸とを反応させること ;

b) 前記活性エステルの製造において、機能性分子のカルボン酸誘導体とペンタフルオロフェノキシ基またはスクシンイミドオキシ基を有する化合物とを反応させること ; および、

c) 前記機能性 P N A モノマーの製造において、 α -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンを、活性エステルである機能性分子の誘導体と反応させること ;

の 1 または 2 以上を含むことを特徴とする、前記方法に関する。

さらにまた、本発明は、下記一般式 (III)



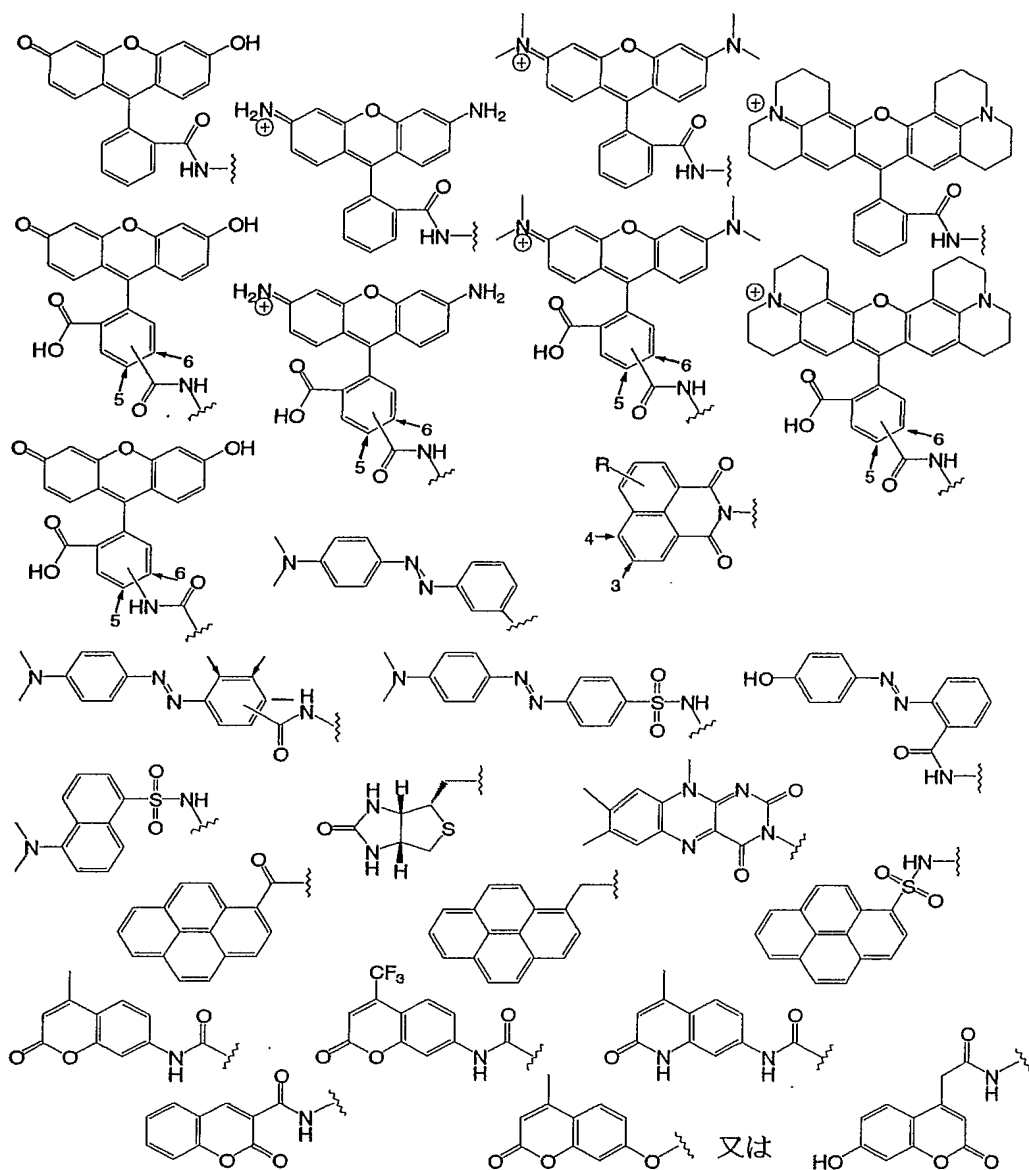
(式中、 R^1 は水素原子または炭素数 1 ～ 5 の直鎖若しくは分枝鎖状のアルキル基、 m は 1 ～ 11 の整数を表す)

で表される ω -アミノ酸誘導体を機能性分子の誘導体と反応させ、機能性分子を P N A モノマーに導入することよりなる機能性 P N A モノマーの製造方法であって、該機能性分子の誘導体が活性エステルであることを特徴とする、前記製造方法に関する。

そして、本発明は、活性エステルが、下記一般式 (II)



(式中、Aは



であり、RはH、NO₂、NH₂、NHCBz、Br、F、ClまたはSO₃Na₂であり、nは1～4の整数である)

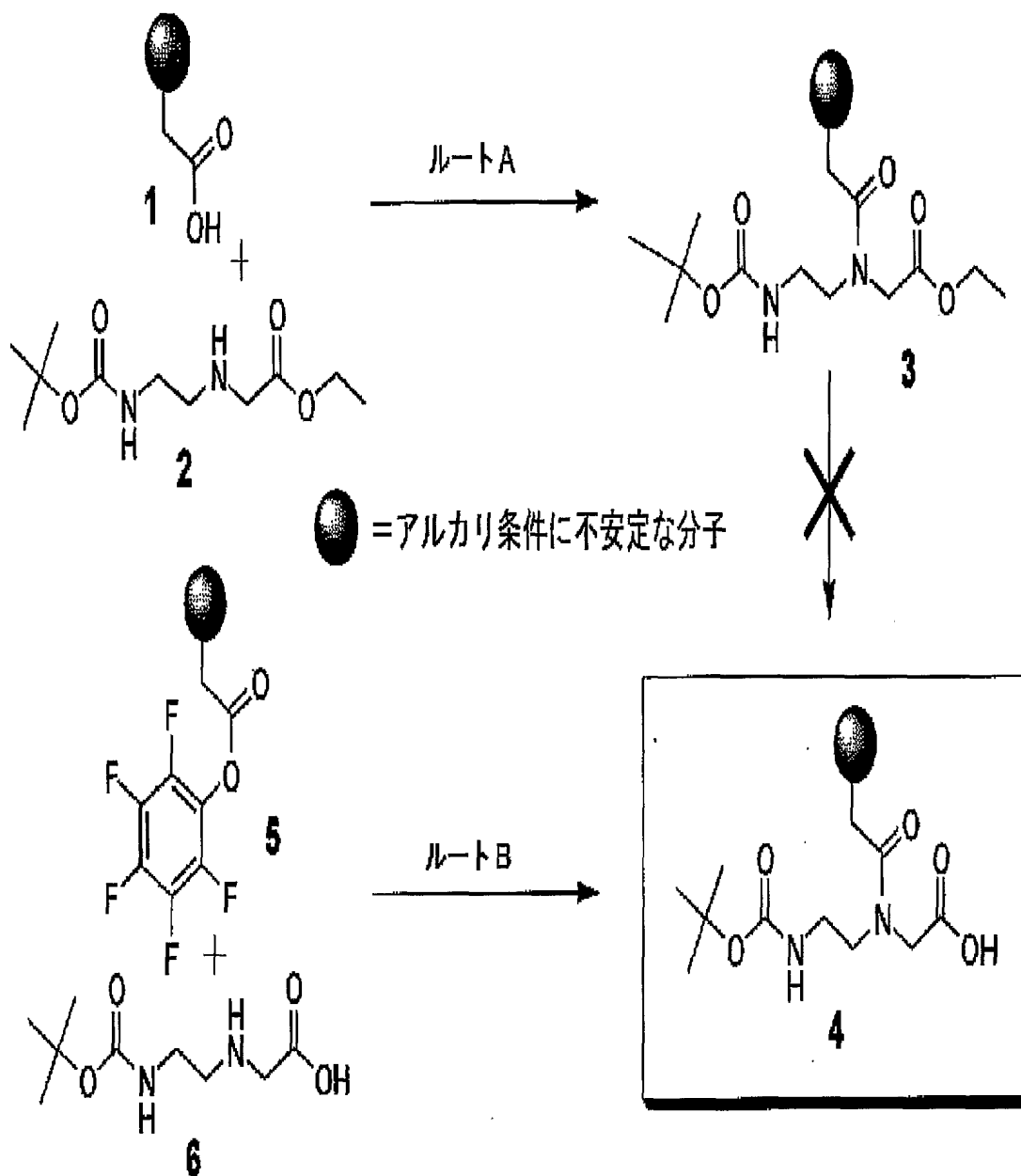
で表される基を、直接または脂肪鎖あるいはペプチド鎖を介して、エステル結合を形成するカルボニル基に有することを特徴とする、前記製造方法に関する。

そしてまた、本発明は、活性エステルが、ペンタフルオロフェノキシ基またはスクシンイミドオキシ基をカルボニル炭素に有することを特徴とする、前記製造方法に関する。

そしてさらに本発明は、機能性分子から活性エステルを製造し、該活性エステルから機能性PNAモノマーを製造すること含む、機能性分子から機能性PNAモノマーを製造する方法において、前記機能性分子からの活性エステルの製造が、m-メチルレッドとスクシンイミドオキシ基を含む化合物とを反応させること、および／または前記活性エステルから機能性PNAモノマーの製造が、一般式(III)で表されるベンジルオキシカルボニル- ω -アミノ酸誘導体を、活性エステルである機能性分子の誘導体と反応させ、機能性分子をPNAモノマーに導入すること、を含むこと特徴とする、前記方法に関する。

ここで、本発明による方法と従来の方法とを比較することによって本発明の特徴を詳細に説明する。

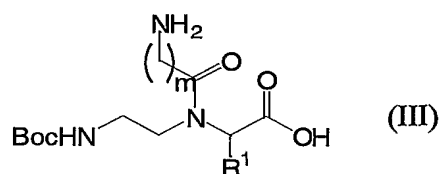
t B o c型PNAモノマーユニット4の合成は通常下記のルートAが用いられる。



即ち、1と2を脱水縮合して3を合成した後、3をアルカリ加水分解することにより4を得る方法である。グアニン・チミン・シトシン・アデニン4種類の核酸塩基を導入する場合もこの方法を用いる。これ以外の機能性分子（表1に挙げる既知化合物のこと）を導入する際にも、ルートAが用いられている。ところが、一般に光機能性分子はアルカリ条件に不安定な場合が多いので、ルートAを用いると収率良く4を得ることができない。そこで従来のPNA背骨構造2を用いて縮合

するのではなく、2を先に加水分解した6を用いることにした。6は1と同様な遊離カルボン酸基を内包しており分子内脱水縮合反応が引き起こる可能性があるため、DCCなどの縮合剤による直接的な脱水縮合反応は利用できない。そこで1をペンタフルオロフェノールにて活性エステル体5に変換した後、6と反応させることにより6の遊離カルボン酸基と2級アミノ基が分子内縮合しないように工夫した（ルートB）。これにより4が定量的に得られるようになった。このように、光機能性分子を活性エステル化して6と反応させ4を合成する方法は前例がなく、今後の多種多様な光機能性PNAモノマーの合成に不可欠な手段であるといえる。

また、ルートCに用いる、下記一般式（III）



（式中、 R^1 は水素原子または炭素数1～5の直鎖若しくは分枝鎖状のアルキル基、 m は1～11の整数を表す）

で表されるベンジルオキシカルボニル- ω -アミノ酸誘導体には予めリンカー（カルボキシルアミノ酸）が結合しているため、当該誘導体は汎用性に富んでおり、活性エステル体を当該誘導体と反応させることによって、1工程で目的とする機能性PNAモノマーユニットが得られる。しかも、ベンジルオキシカルボニル- ω -アミノ酸誘導体も、多くの市販品を用いることができる。したがって、当該ルートCは、比較的高価な光機能性分子を対象とする場合に特に有効である。

一方、スルホン酸クロリド系および立体障害が大きいメチルレッド等の光機能性分子のPNAモノマー化は、ルートBによってより好適に行われる。

したがって、本発明のルートBおよびルートCによる合成法を適宜選択することによって、多種多様な機能性PNAモノマーを合成することができる。

本発明によれば、例えば、Naphthalimide型、Flavin型、Dabcyl型、Biotin型、FAM型、Rhodamine型、TAMRA型、ROX型、HABA型、Pyrene型、Coumarin型のような光機能性モノマーユニットが得られる。また、これら以外の光機能性モノマーユニットおよび光機能性モノマーユニット以外の機能性モノマーユニットを得るこ

とも可能である。

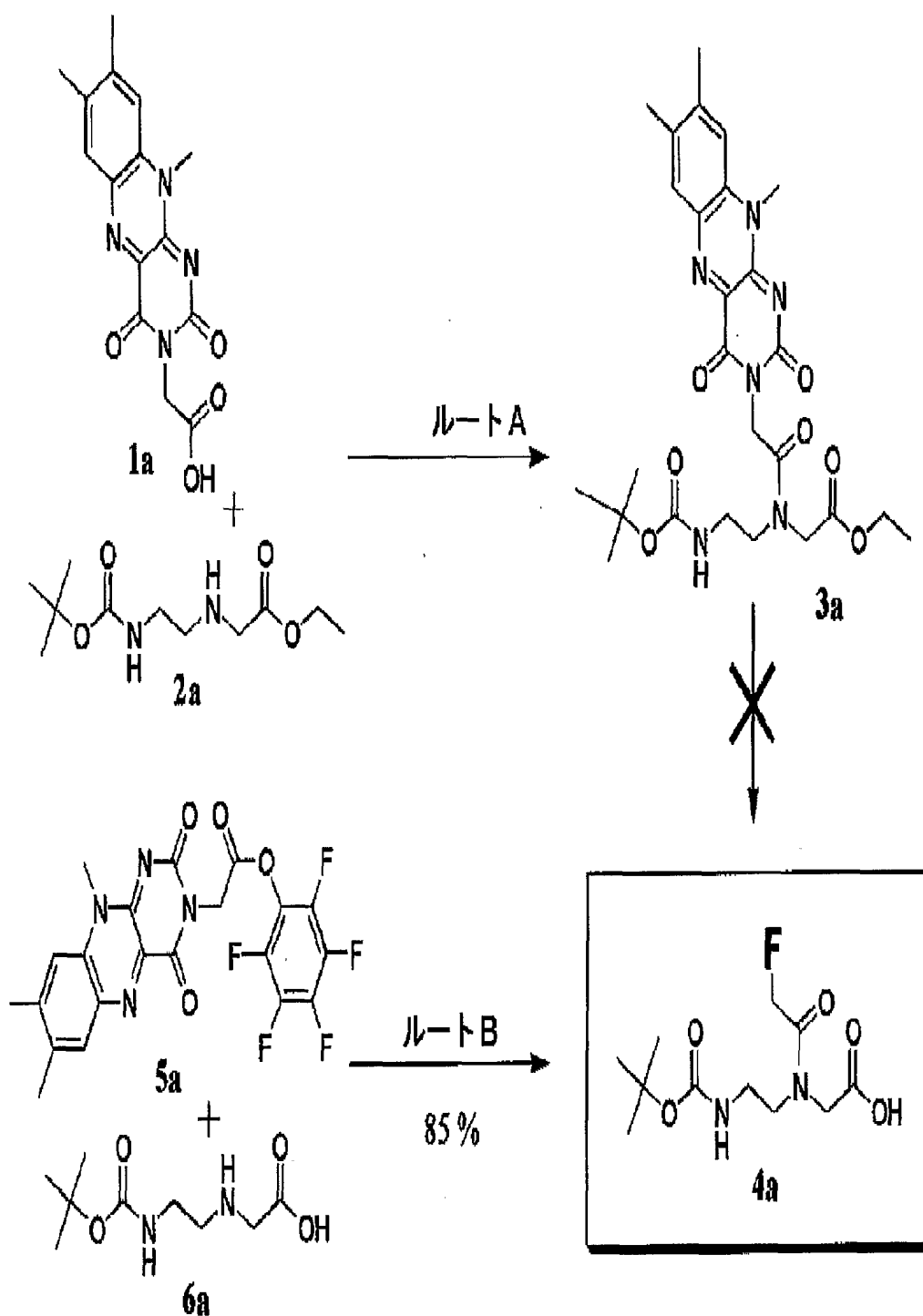
図面の簡単な説明

図 1 は、DNA と PNA の構造および荷電の状況の違いを表す図である。

図 2 は、2 種類の PNA モノマーユニットの構造を表す図である。

発明を実施するための形態

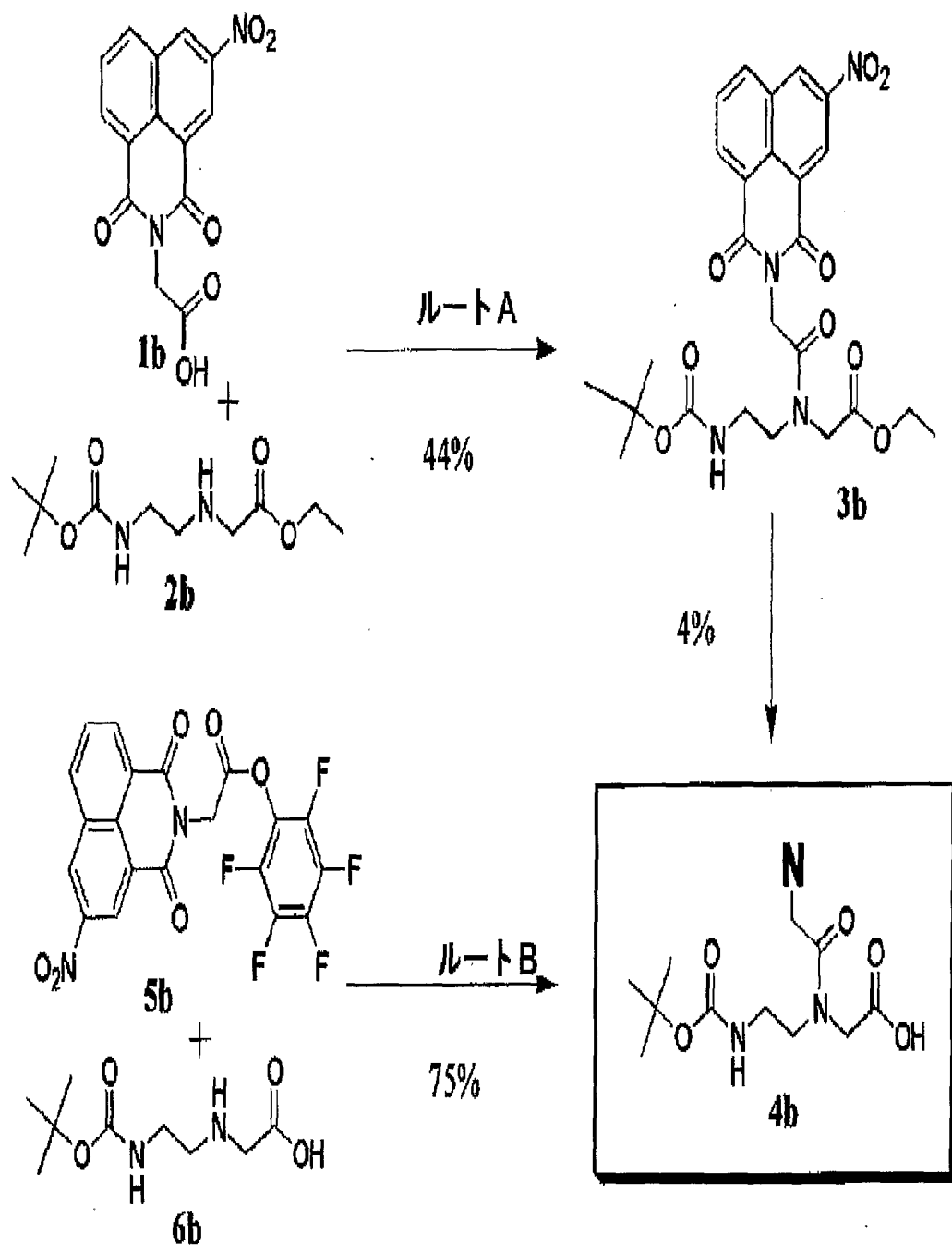
光機能性モノマーユニットの合成に関しては、例えば化合物4aの合成、



において従来は機能性分子のカルボン酸誘導体1aとPNA背骨構造2aを脱水縮合して3aを合成したあとで、アルカリ加水分解して目的の4aを得ていた（ルートA

）。ところが1aのフラビン骨格は酸には安定であるがアルカリ性条件で容易に分解し6,7-dimethylquinoxalinedioneになってしまうので、例えば3aが合成できても4aを効率よく得ることは不可能である。そこで1aを活性エステル体5aに変換して6aと反応させたところ、4aは85%の収率でほぼ定量的に反応が進行するようになった(ルートB)。

また、化合物4 bの合成



において、ナフタリイミド誘導体3bも該当する1bと2bから44%の収率で得られたが、次のアルカリ加水分解により得られる4bはわずか4%であった（ルートA）。そこで1bを活性エステル体5bに変換して6bと反応させたところ、4bは75%の収率で反応が進行するようになった（ルートB）。

カルボン酸誘導体である 1 a および 1 b の製造には、脂肪族カルボン酸、好ましくは直鎖の脂肪族カルボン酸を用いる。

また、PNAのアミノ基末端に導入するモノマーの製造には、スクシンイミド基を有する活性エステルが好適に用いられる。

なお、ルートCに用いる一般式 (I I I) の ω -アミノ酸誘導体として、そのアミノ酸部分におけるカルボニル炭素上の炭素鎖の長さが炭素数 1 ~ 11 のものが用いられるが、一般にPNAはDNAとのハイブリッドを期待しているので、立体的にDNAに類似している誘導化が望ましい。この点を考慮すると、カルボキシルアミノ酸をリンカーとして利用する場合、アミノ酸部分がZ-グリシンであるものが最適である。

光機能性オリゴPNAの合成方法としては、Fmoc法とtBoc法が用いられる。Fmoc法はアルカリ性試薬による脱保護過程を含んでおり、光機能性オリゴPNAの設計には不適切である。一方、tBoc法はその合成過程にアルカリ条件を使用しないので光機能性オリゴPNAの合成方法として適している。したがって、本発明によるPNAモノマーをtBoc法に適用すれば、光機能性オリゴPNAの合成が効率的に行えるようになる。

実施例

以下に実施例を用いて本発明をさらに詳細に説明するが、本発明の範囲はこれに限られるものではない。

(実施例 1)

2,3,4,5,6-ペンタフルオロフェニル 2-(5,7,8-トリメチル-1,3-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-2,4-ジアザフェナジン-2-イル)アセテート (5a)の合成

4a (100 mg, 318 μ mol) と PfpOH (70.2 mg, 381 μ mol) の DMF 溶液 (10 mL) に EDC (73.2 mg, 382 μ mol) を 0 °C で加え、この反応液を 0 °C で 1 時間室温で 12 時間攪拌した。この反応液を減圧濃縮し、残渣を水・クロロホルム系で分配抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧濃縮したあと、残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (2.5% MeOH/CHCl₃) により精製し 5a (130 mg, 85%) を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 8.07 (s, 1 H), 7.44 (s, 1 H), 5.21 (s, 2 H

TRANSLATION IN JP

INTERNATION SEARCH REPORT

国際調査報告

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

差替え用紙（規則26）

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26 ISA/JP)

差替え用紙（規則26 ISA/JP）

AMENDED SHEET (ARTICLE 19)

補正された用紙（条約第19条）

STATEMENT UNDER ARTICLE 19 (1)

条約第19条（1）に基づく説明書

RECTIFIED SHEET (RULE 91)

訂正された用紙（規則91）

RECTIFIED SHEET (RULE 91 ISA/JP)

訂正された用紙（規則91 ISA/JP）

RECTIFIED SHEET (RULE 91 RO/JP)

訂正された用紙（規則91 RO/JP）

CONFIRMATION COPY

.....

), 4.14 (s, 3 H), 2.55 (s, 3 H), 2.45 (s, 3 H); HRMS (FAB⁺, NBA/CH₂Cl₂) C₂₁H₁₄O₄N₂F₅ [(M+H)⁺]の計算値は 481.0934, 実測値は 481.0950; UV λ_{max} (DMF) 390, 460 (nm).

(実施例 2)

2-(N-(2-((t-ブトキシ)カルボニルアミノ)エチル))-2-(5,7,8-トリメチル-1,3-ジオキソ(2,5-ジヒドロ-2,4-ジアザフェナジン-2-イル)アセチルアミノ)酢酸 (4a)の合成

5a (100 mg, 208 μmol) と 6a (45.4 mg, 208 μmol) の DMF 溶液 (10 mL) に ジイソプロピルエチルアミン (36.3 μL, 208 μmol) を加え、室温で 15 時間 攪拌した。これを減圧濃縮し残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (10-50% MeOH/CHCl₃) により精製し 4a (130 mg, 85%) を得た。¹H NMR (CD₃OD) δ 7.94 (s) 及び 7.86 (s) (1 H), 7.80 (s) 及び 7.75 (s) (1 H), 5.03 (s) 及び 4.88 (s) (2 H), 4.17 (s) 及び 4.13 (s) (3 H), 3.64 及び 3.52 (2 H), 3.38 及び 3.26 (2 H), 2.58 (s) 及び 2.56 (s) (3 H), 2.46 (s) 及び 2.44 (s) (3 H), 1.46 (s) 及び 1.41 (s) (9 H); HRMS (FAB⁺, NBA/CH₂Cl₂) C₂₄H₃₁O₇N₆ [(M+H)⁺]の計算値は 515.2252, 実測値は 515.2273; UV λ_{max} (DMF) 390, 460 (nm).

(実施例 3)

N-(4-ジメチルアミノアゾベンゼン-2'-カルボニル)グリシン(1c)の合成

メチルレッド (1.35 g, 5 mmol) と t-ブチルグリシン塩酸塩 (880 mg, 5.25 mmol) の DMF 溶液 (10 mL) に トリエチルアミン (732 μL, 5.25 mmol) を加えたあと、氷冷下 DCC (1.13g, 5.5 mmol) を加え 30 分、さらに室温で 15 時間 攪拌した。反応液を濾過し濾液を減圧濃縮して、残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (0-10% アセトン/CH₂Cl₂) により精製し、橙色針状晶として 1c の t-ブチルエステル誘導体 (1.05 g, 55%) を得た。これ (765 mg, 2 mmol) に 蟻酸 (50 mL) を加え室温で 2 日 攪拌し、減圧濃縮し蟻酸を除いたあと、残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (0-5% Acetone/CH₂Cl₂) により精製し、赤色針状晶として 1c (549 mg, 84%) を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 9.99 (brt, 1H), 8.40 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7.89 (d, J = 9 Hz, 2 H), 7.84 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.56 (t, J = 8 Hz, 1 H), 7.49 (t, J = 8 Hz, 1 H), 6.75 (d, J = 9 Hz, 2H), 4.42 (d, J = 5 Hz, 2 H), 3.10 (s, 6 H); ¹³

C NMR (CDCl₃) δ 167.61, 153.39, 150.86, 143.30, 132.49, 131.47, 129.38, 127.69, 126.28, 116.24, 111.63, 43.20, 40.24.

(実施例 4)

2,3,4,5,6-ペンタフルオロフェニルN-(4-ジメチルアミノアゾベンゼン-2'-カルボニル)グリシネート (5c)の合成

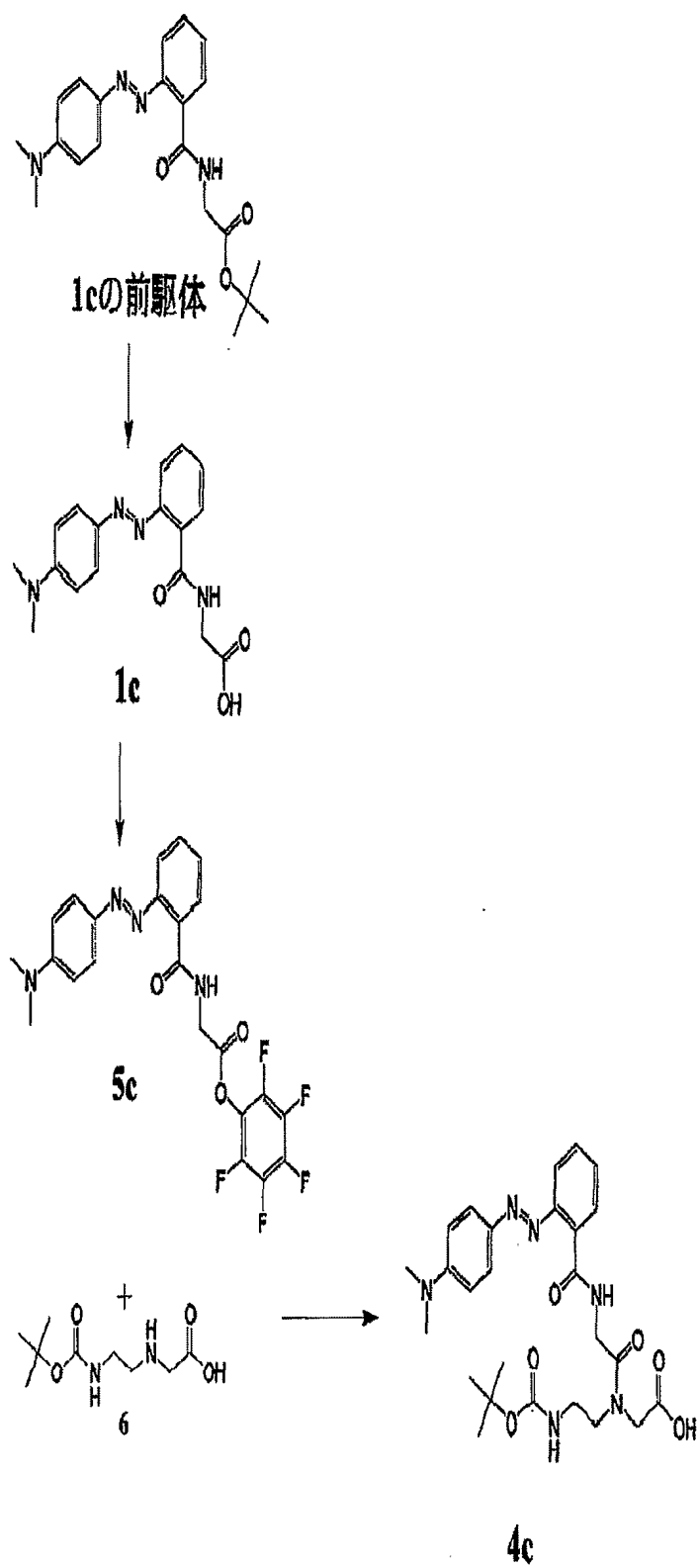
1c(326 mg, 1 mmol)とPfpOH(276 mg, 1.5 mmol)のDMF溶液(10 mL)にDCC(308 mg, 1.5mmol)を氷冷下に加え、この反応液を室温で15時間攪拌した。反応液を濾過し濾液を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (0-5% アセトン/CH₂Cl₂) により精製し橙色粉末として5c(449 mg, 91%)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 10.14 (brt, 1 H), 8.37 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7.78 (d, J = 9 Hz, 2 H), 7.76 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7.57 (t, J = 8 Hz, 1 H), 7.50 (t, J = 8 Hz, 1 H), 6.74 (d, J = 9 Hz, 2 H), 4.68 (d, J = 5 Hz, 2 H), 3.06 (s, 6 H).

(実施例 5)

2-(N-(2-((t-ブトキシ)カルボニルアミノ)エチル)-2-(4-ジメチルアミノアゾベンゼン-2'-カルボニルアミノ)アセチルアミノ)酢酸 (4c)の合成

5c(246 mg, 0.5 mmol)と6(109 mg, 0.5 mmol)のDMF溶液(5 mL)にジイソプロピルエチルアミン (85 μL, 0.5 mmol)を加え、室温で15時間攪拌した。これを減圧濃縮し残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (0-30% MeOH/ CH₂Cl₂) により精製し4c(225 mg, 72%)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 9.99 (s) 及び 9.85 (s) (1 H), 8.3-7.6 (m, 4 H), 7.4-7.2 (m, 2 H), 6.67 (s) 及び 6.59 (s) (2 H), 5.62 (s) 及び 5.27 (s) (1 H), 4.35 (s) 及び 4.20 (s) (2 H), 3.99 及び 3.90 (2 H), 3.5(brs) 及び 3.3 (brs) (2 H), 3.2 (brs) 及び 3.0 (brs) (2 H), 2.99 (s) 及び 2.87(s) (6 H), 1.25 (brs, 9 H).

1 c から 4 c に至るルートは下記の通りであった。



(実施例 6)

N-(4-ヒドロキシアゾベンゼン-2'-カルボニル)グリシン (1d)の合成

HABA(1.21 g, 5 mmol)とt-ブチルグリシン塩酸塩(880 mg, 5.25 mmol)のDMF溶液(10mL)にトリエチルアミン(732 μ L, 5.25 mmol)を加えたあと、氷冷下DCC(1.13 g, 5.5mmol)を加え30分、さらに室温で15時間攪拌した。反応液を濾過し濾液を減圧濃縮して、残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (0-5% アセトン/ CH_2Cl_2)により精製し、橙色粉末として1dのt-ブチルエステル誘導体(1.73 g, 97%)を得た。これ(1.07 g, 3mmol)に蟻酸(50 mL)を加え室温で2日攪拌し、減圧濃縮し蟻酸を除いたあと、残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (0-5% アセトン/ CH_2Cl_2)により精製し、橙色粉末として1d(0.89 g, 99%)を得た。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 10.45 (brt, 1 H), 8.88 (brt, J = 5 Hz, 1 H), 7.91 (d, J = 9 Hz, 2 H), 7.85 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7.70 (d, J = 8Hz, 1 H), 7.60 (t, J = 8 Hz, 1 H), 7.57 (t, J = 8 Hz, 1 H), 6.94 (d, J = 9Hz, 2 H), 4.05 (d, J = 5 Hz, 2 H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 171.18, 166.44, 161.54, 149.13, 145.34, 133.20, 131.09, 130.18, 129.61, 125.86, 116.00, 115.88, 41.60.

(実施例 7)

2,3,4,5,6-ペンタフルオロフェニル N-(4-ヒドロキシアゾベンゼン-2'-カルボニル)グリシネート(5d)の合成

1d(299 mg, 1 mmol)とPfpOH(276 mg, 1.5 mmol)のDMF溶液(10 mL)にDCC(308 mg, 1.5mmol)を氷冷下加え、この反応液を室温で15時間攪拌した。反応液を濾過し濾液を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (0-5% アセトン/ CH_2Cl_2)により精製し橙色粉末として5d(46 mg, 10%)を得た。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 9.67 (brs, 1 H), 9.02 (brt, 1 H), 7.8-7.7 (m, 3 H), 7.6-7.5 (m, 2 H), 7.23 (d, J = 9 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 9 Hz, 2 H), 4.67 (d, J = 5 Hz, 2 H).

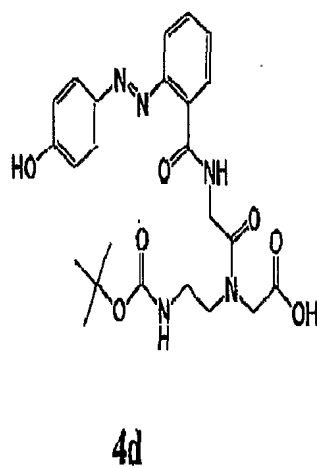
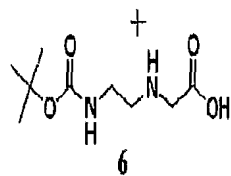
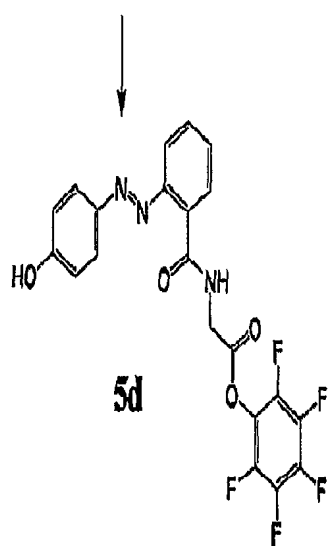
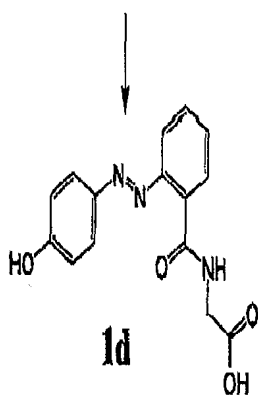
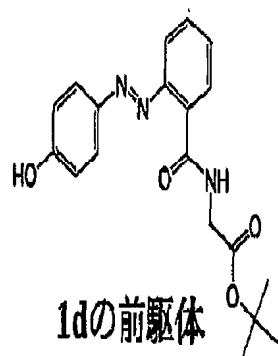
(実施例 8)

2-(N-(2-((t-ブトキシ)カルボニルアミノ)エチル)-2-(4-ヒドロキシアゾベンゼン-2'-カルボニルアミノ)アセチルアミノ)酢酸 (4d)の合成

5d(37 mg, 80 μ mol)と6(18 mg, 80 μ mol)のDMF溶液(5 mL)にジイソプロピルエチルアミン(14 μ L, 80 μ mol)を加え、室温で15時間攪拌した。これを減圧

濃縮し残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (0-30% MeOH/ CH₂Cl₂) により精製し 4d(13 mg, 33%)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 9.77 (s) 及び 9.59 (s) (1 H), 8.26 (s) 及び 8.14 (s) (2H), 7.9-7.6 (m, 2 H), 7.6-7.3 (m, 2 H), 7.0-6.6 (m, 2 H), 5.35 (s) 及び 5.05(s) (1 H), 4.40 (s) 及び 4.24 (s) (2 H), 3.98 (s, 2 H), 3.6-3.3 (m, 2 H), 3.21 (s) 及び 3.02 (s) (2 H), 1.28 (s) 及び 1.18 (s) (9 H).

1 d から 4 d に至るルートは下記の通りであった。



(実施例 9)

FAM-Gly-^{Boc}PNA-OHの合成

Gly-^{Boc}PNA-OH (30.3 mg, 0.10 mmol) のdimethylformamide溶液 (5 mL) に5,6-FAM *N*-hydroxysuccinimide ester (50 mg, 0.11 mmol) とtriethylamine (250 μ L, 2.0 mmol) を順番に加え、室温で15時間攪拌した。反応終了後減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (0-25% MeOH/dichloromethane) に付し、黄色粉末としてFAM-Gly-^{Boc}PNA-OH (69.8 mg, 100%) を得た。FABMS m/z 634 [(M+H)⁺]; HRMS (FAB⁺) calcd for C₃₂H₃₂O₁₁N₃ [(M+H)⁺] 634.1959, observed 634.2034.

(実施例 10)

TAMRA-Gly-^{Boc}PNA-OHの合成

Gly-^{Boc}PNA-OH (5.8 mg, 21 μ mol) のdimethylformamide溶液 (5 mL) に5,6-TAMRA *N*-hydroxysuccinimide ester (5 mg, 9.5 μ mol) とtriethylamine (20 μ L, 140 μ mol) を順番に加え、室温で15時間攪拌した。反応終了後減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (0-30% MeOH/dichloromethane) に付し、赤紫色粉末としてTAMRA-Gly-^{Boc}PNA-OH (6mg, 100%) を得た。FABMS m/z 688 [(M+H)⁺]; HRMS (FAB⁺) calcd for C₃₆H₄₂O₉N₃ [(M+H)⁺] 688.2904, observed 688.2993.

(実施例 11)

ROX-Gly-^{Boc}PNA-OHの合成

Gly-^{Boc}PNA-OH (4.9 mg, 18 μ mol) のdimethylformamide溶液 (5 mL) に5,6-ROX *N*-hydroxysuccinimide ester (5 mg, 8 μ mol) とtriethylamine (20 μ L, 140 μ mol) を順番に加え、室温で15時間攪拌した。反応終了後減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (0-30% MeOH/dichloromethane) に付し、紫色粉末としてROX-Gly-^{Boc}PNA-OH (6mg, 100%) を得た。FABMS m/z 792 [(M+H)⁺]; HRMS (FAB⁺) calcd for C₄₄H₅₀O₉N₃ [(M+H)⁺] 792.3530, observed 792.3615.

(実施例 12)

2,3,4,5,6-Pentafluorophenyl *N*-(4-Dimethylaminoazobenzene-2'-carbonyl)glycinate *o*-MR-Gly-OPfpの合成

o-MR-Gly-OH (326 mg, 1 mmol)とPfpOH (276 mg, 1.5 mmol)のDMF溶液(10 mL)にDCC (308 mg, 1.5 mmol)を氷冷下加え、この反応液を室温で15時間攪拌した。反応液を濾過し濾液を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (0-5% Acetone/CH₂Cl₂) により精製し橙色粉末として*o*-MR-Gly-OPfp (449 mg, 91%)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 10.14 (brt, 1 H), 8.37 (d, *J* = 8 Hz, 1 H), 7.78 (d, *J* = 9 Hz, 2 H), 7.76 (d, *J* = 8 Hz, 1 H), 7.57 (t, *J* = 8 Hz, 1 H), 7.50 (t, *J* = 8 Hz, 1 H), 6.74 (d, *J* = 9 Hz, 2 H), 4.68 (d, *J* = 5 Hz, 2 H), 3.06 (s, 6 H).

(実施例 13)

2-(*N*-(2-((*tert*-Butoxy)carbonylamino)ethyl)-2-(4-dimethylaminoazobenzene-2'-carbonylamino)acetylaminio)acetic acid *o*-MR-Gly-^{Boc}PNA-OHの合成

o-MR-Gly-OPfp (246 mg, 0.5 mmol)と^{Boc}PNA-OH (109 mg, 0.5 mmol)のDMF溶液 (5 mL)に*diisopropylethylamine* (85 μL, 0.5 mmol)を加え、室温で15時間攪拌した。これを減圧濃縮し残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (0-30% MeOH/CH₂Cl₂) により精製し*o*-MR-Gly-^{Boc}PNA-OH (225 mg, 72%)を得た。¹H NMR (CDCl₃)

δ 9.99 (s) and 9.85 (s) (1 H), 8.3-7.6 (m) (4 H), 7.4-7.2 (m) (2 H), 6.67 (s) and 6.59 (s) (2 H), 5.62 (s) and 5.27 (s) (1 H), 4.35 (s) and 4.20 (s) (2 H), 3.99 and 3.90 (2 H), 3.5 (brs) and 3.3 (brs) (2 H), 3.2 (brs) and 3.0 (brs) (2 H), 2.99 (s) and 2.87 (s) (6 H), 1.25 (brs, 9 H).

(実施例 14)

2-(*N*-(2-((*tert*-Butoxy)carbonylamino)ethyl)-2-(4-dimethylaminoazobenzene-4'-carbonylamino)acetylaminio)acetic acid DabcyI-Gly-^{Boc}PNA-OH (*p*-MR-Gly-^{Boc}PNA-OH)の合成

Gly-^{Boc}PNA-OH (100 mg, 0.39 mmol)のdimethylformamide溶液 (10 mL)にdabcyI *N*-hydroxysuccinimide ester (145 mg, 0.40 mmol)とtriethylamine (600 μL, 4.5 mmol)を順番に加え、室温で15時間攪拌した。反応終了後減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (0-4% MeOH/dichloromethane)に付し、赤褐色粉末としてDabcyI-Gly-^{Boc}PNA-OH (184 mg, 90%)を得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 8.18 (d, *J* = 7 Hz, 2 H), 7.91 (d, *J* = 7 Hz, 2 H), 7.88 (d,

$J = 7$ Hz, 2 H), 6.77 (d, $J = 7$ Hz, 2 H), 5.76 (s) and 5.30 (s) (2 H), 4.22 (brs) and 4.05 (brs) (2 H), 3.73 (brs) and 3.49 (brs) (2 H), 3.47 (brs) and 3.29 (brs) (2 H), 1.26 (s, 9 H); FABMS m/z 527 [(M+H)⁺].

(実施例 15)

N-(4-Hydroxyazobenzene-2'-carbonyl)glycine HABA-Gly-OHの合成

HABA (1.21 g, 5 mmol)と t -ブチルグリシン塩酸塩 (880 mg, 5.25 mmol)のDMF溶液(10 mL)にトリエチルアミン(732 μ L, 5.25 mmol)を加えたあと、氷冷下DCC (1.13 g, 5.5 mmol)を加え30分、さらに室温で15時間攪拌した。反応液を濾過し濾液を減圧濃縮して、残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (0-5% Acetone/ CH_2Cl_2)により精製し、橙色粉末としてHABA-Gly-OHの t -ブチルエステル誘導体(1.73 g, 97%)を得た。これ(1.07 g, 3 mmol)に蟻酸(50 mL)を加え室温で2日攪拌し、減圧濃縮し蟻酸を除いたあと、残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (0-5% Acetone/ CH_2Cl_2)により精製し、橙色粉末としてHABA-Gly-OH (0.89 g, 99%)を得た。¹H NMR (CDCl_3) δ 10.45 (brt, 1 H), 8.88 (brt, $J = 5$ Hz, 1 H), 7.91 (d, $J = 9$ Hz, 2 H), 7.85 (d, $J = 8$ Hz, 1 H), 7.70 (d, $J = 8$ Hz, 1 H), 7.60 (t, $J = 8$ Hz, 1 H), 7.57 (t, $J = 8$ Hz, 1 H), 6.94 (d, $J = 9$ Hz, 2 H), 4.05 (d, $J = 5$ Hz, 2 H); ¹³C NMR (CDCl_3) δ 171.18, 166.44, 161.54, 149.13, 145.34, 133.20, 131.09, 130.18, 129.61, 125.86, 116.00, 115.88, 41.60.

(実施例 16)

2,3,4,5,6-Pentafluorophenyl *N*-(4-Hydroxyazobenzene-2'-carbonyl)glycinate HABA-Gly-OPfpの合成

HABA-Gly-OH (299 mg, 1 mmol)とPfpOH (276 mg, 1.5 mmol)のDMF溶液(10 mL)にDCC (308 mg, 1.5 mmol)を氷冷下加え、この反応液を室温で15時間攪拌した。反応液を濾過し濾液を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (0-5% Acetone/ CH_2Cl_2)により精製し橙色粉末としてHABA-Gly-OPfp (46 mg, 10%)を得た。¹H NMR (CDCl_3) δ 9.67 (brs, 1 H), 9.02 (brt, 1 H), 7.8-7.7 (m, 3 H), 7.6-7.5 (m, 2 H), 7.23 (d, $J = 9$ Hz, 1 H), 6.86 (d, $J = 9$ Hz, 2 H), 4.67 (d, $J = 5$ Hz, 2 H).

(実施例 17)

2-(N-(2-((*tert*-Butoxy)carbonylamino)ethyl)-2-(4-hydroxyazobenzene-2'-carbonylamino)acethylamino)acetic acid HABA-Gly-^{Boc}PNA-OHの合成

HABA-Gly-OPfp (37 mg, 80 μ mol)と^{Boc}PNA-OH (18 mg, 80 μ mol)のDMF溶液(5 mL)にdiisopropylethylamine (14 mL, 80 μ mol)を加え、室温で15時間攪拌した。これを減圧濃縮し残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (0-30% MeOH/ CH₂Cl₂)により精製しHABA-Gly-^{Boc}PNA-OH (13 mg, 33%)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 9.77 (s) and 9.59 (s) (1 H), 8.26 (s) and 8.14 (s) (2 H), 7.9-7.6 (m, 2 H), 7.6-7.3 (m, 2 H), 7.0-6.6 (m, 2 H), 5.35 (s) and 5.05 (s) (1 H), 4.40 (s) and 4.24 (s) (2 H), 3.98 (s, 2 H), 3.6-3.3 (m, 2 H), 3.21 (s) and 3.02 (s) (2 H), 1.28 (s) and 1.18 (s) (9 H).

(実施例18)

2,3,4,5,6-Pentafluorophenyl 2-(5,7,8-trimethyl-1,3-dioxo-2,5-dihydro-2,4-diazaphenazin-2-yl)acetate Flavin-OPfpの合成

Flavin (100 mg, 318 μ mol)とPfpOH (70.2 mg, 381 μ mol)のDMF溶液(10 mL)にEDC (73.2 mg, 382 μ mol)を0°Cで加え、この反応液を0°Cで1時間室温で12時間攪拌した。この反応液を減圧濃縮し、残渣を水・クロロホルム系で分配抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧濃縮したあと、残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (2.5% MeOH/CHCl₃)により精製しFlavin-OPfp (130 mg, 85%)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 8.07 (s, 1 H), 7.44 (s, 1 H), 5.21 (s, 2 H), 4.14 (s, 3 H), 2.55 (s, 3 H), 2.45 (s, 3 H); HRMS (FAB⁺, NBA/CH₂Cl₂) calcd for C₂₁H₁₄O₄N₄F₅ [(M+H)⁺] 481.0934, observed 481.0950; UV λ_{\max} (DMF) 390, 460 (nm).

(実施例19)

2-(N-(2-((*tert*-Butoxy)carbonylamino)ethyl)-2-(5,7,8-trimethyl-1,3-dioxo(2,5-dihydro-2,4-di-azaphenazin-2-yl)acethylamino)acetic acid Flavin-^{Boc}PNA-OHの合成

Flavin-OPfp (100 mg, 208 μ mol)と^{Boc}PNA-OH (45.4 mg, 208 μ mol)のDMF溶液(10 mL)にdiisopropylethylamine (36.3 μ L, 208 μ mol)を加え、室温で15時間攪拌した。これを減圧濃縮し残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (10-50% MeOH/CHCl₃)により精製しFlavin-^{Boc}PNA-OH (130 mg, 85%)を得た。¹H NMR

(CD₃OD) δ 7.94 (s) and 7.86 (s) (1 H), 7.80 (s) and 7.75 (s) (1 H), 5.03 (s) and 4.88 (s) (2 H), 4.17 (s) and 4.13 (s) (3 H), 3.64 and 3.52 (2 H), 3.38 and 3.26 (2 H), 2.58 (s) and 2.56 (s) (3 H), 2.46 (s) and 2.44 (s) (3 H), 1.46 (s) and 1.41 (s) (9 H); HRMS (FAB⁺, NBA/CH₂Cl₂) calcd for C₂₄H₃₁O₇N₆ [(M+H)⁺] 515.2252, observed 515.2273; UV λ_{\max} (DMF) 390, 460 (nm).

(実施例 20)

2', 3', 4', 5', 6' -Pentafluorophenyl 1,3-Dioxo-1H-benz[de]isoquinoline-2(3H)-acetate NI-OPfpの合成

NI-OH (192 mg, 0.75 mmol)とPfpOH (152 mg, 0.83 mmol)のDMF溶液(5 mL)にDCC (155 mg, 0.75 mmol)を氷冷下加え、この反応液を室温で15時間攪拌した。反応液を濾過し濾液を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (CH₂Cl₂) により精製し赤色粉末としてNI-OPfp (277 mg, 87%)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 8.64 (d, J = 8 Hz, 2 H), 8.25 (d, J = 8 Hz, 2 H), 7.78 (t, J = 8 Hz, 2 H), 5.29 (s, 2 H).

(実施例 21)

2-(N-(2-((tert-Butoxy)carbonylamino)ethyl)-2-(1,3-dioxo-1H-benz[de]isoquinoline-2(3H))acethylamino)acetic acid NI-^{Boc}PNA-OHの合成

NI-OPfp (211 mg, 0.50 mmol) と ^{Boc}PNA-OH (120 mg, 0.55 mmol) の DMF溶液 (10 mL)に*diisopropylethylamine* (87 μ L, 0.50 mmol) を加え、室温で15時間攪拌した。これを減圧濃縮し残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (0-20% MeOH /CHCl₃) により精製し NI-^{Boc}PNA-OH (130 mg, 85%) を得た。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.47 (m, 4 H), 7.86 (dd, J = 8.3, 7.3 Hz, 2 H), 4.73 (s, 2 H); ¹³C NMR (CDCl₃) d 167.84, 163.59, 134.20, 131.44, 131.39, 128.11, 126.78, 122.00, 61.59, 41.44, 14.29; HRMS (FAB⁺, NBA/CH₂Cl₂) calculated for (C₁₆H₁₃NO₄)H⁺ 284.2933, observed 456.1767; UV λ_{\max} (DMF) 333 nm.

(実施例 22)

2', 3', 4', 5', 6' -Pentafluorophenyl 1,3-Dioxo-5-nitro-1H-benz[de]isoquinoline-2(3H)-acetate NI(NO₂)-OPfpの合成

NI(NO₂)-OH (100 mg, 318 μmol) と PfpOH (70.2 mg, 381 μmol) の DMF 溶液 (10 mL) に EDC (73.2 mg, 382 μmol) を 0 ° C で加え、この反応液を 0 ° C で 1 時間室温で 12 時間攪拌した。この反応液を減圧濃縮し、残渣を水・クロロホルム系で分配抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧濃縮したあと、残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (2.5% MeOH/CHCl₃) により精製し NI(NO₂)-OPfp (130 mg, 85%) を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 8.07 (s, 1 H), 7.44 (s, 1 H), 5.21 (s, 2 H), 4.14 (s, 3 H), 2.55 (s, 3 H), 2.45 (s, 3 H); HRMS (FAB⁺, NBA/CH₂Cl₂) calcd for C₂₁H₁₄O₄N₄F₅ [(M+H)⁺] 481.0934, observed 481.0950; UV λ_{max} (DMF) 390, 460 (nm).

(実施例 2 3)

2-(N-(2-((*tert*-Butoxy)carbonylamino)ethyl)-2-(1,3-dioxo-5-nitro-1H-benz[de]isoquinoline-2(3H))acethylamino)acetic acid NI(NO₂)-^{Boc}PNA-OH の合成

NI(NO₂)-OPfp (100 mg, 208 μmol) と ^{Boc}PNA-OH (45.4 mg, 208 μmol) の DMF 溶液 (10 mL) に diisopropylethylamine (36.3 μL, 208 μmol) を加え、室温で 15 時間攪拌した。これを減圧濃縮し残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (10-50% MeOH/CHCl₃) により精製し NI(NO₂)-^{Boc}PNA-OH (130 mg, 85%) を得た。¹H NMR (CD₃OD) δ 7.94 (s) and 7.86 (s) (1 H), 7.80 (s) and 7.75 (s) (1 H), 5.03 (s) and 4.88 (s) (2 H), 4.17 (s) and 4.13 (s) (3 H), 3.64 and 3.52 (2 H), 3.38 and 3.26 (2 H), 2.58 (s) and 2.56 (s) (3 H), 2.46 (s) and 2.44 (s) (3 H), 1.46 (s) and 1.41 (s) (9 H); HRMS (FAB⁺, NBA/CH₂Cl₂) calcd for C₂₄H₃₁O₇N₆ [(M+H)⁺] 515.2252, observed 515.2273; UV λ_{max} (DMF) 390, 460 (nm).

(実施例 2 4)

5-Acetylamino-1,3-dioxo-1H-benz[de]isoquinoline-2(3H)-acetic Acid NI(NHAc)-OH の合成

NI(NH₂)-OH (100 mg, 0.37 mmol) を pyridine (3 mL) と Ac₂O (3 mL) に溶かし、室温で 15 時間攪拌した。減圧濃縮したあと dichloromethane で洗い、ろ過・乾燥させ NI(NHAc)-OH (103.2 mg, 89%) を得た。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.79 (s, 1 H), 8.61 (s, 1 H), 8.40 (d, J = 8 Hz, 1 H), 8.37 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7.82 (t,

J = 8 Hz, 1 H), 4.71 (s, 2 H), 2.16 (s, 3 H).

(実施例 25)

2',3',4',5',6'-Pentafluorophenyl 5-Acetylamino-1,3-dioxo-1H-benz[de]isoquinoline-2(3H)-acetate NI(NHAc)-OPfpの合成

NI(NHAc)-OH (97 mg, 0.31 mmol)と PfpOH (63 mg, 0.34 mmol) の DMF溶液 (5 mL) に DCC (71 mg, 0.34 mmol) を 0 ° C で加え、この反応液を 0 ° C で 1 時間室温で 15 時間攪拌した。この反応液をろ過後減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (0-20% acetone/CHCl₃) により精製し NI(NHAc)-OPfp (140 mg, 95%) を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 8.96 (s, 1 H), 8.53 (d, J = 7.7 Hz, 1 H), 8.32 (d, J = 1.6 Hz, 1 H), 8.20 (d, J = 7.7 Hz, 1 H), (t, J = 7.5 Hz, 2 H), 7.82 (brs, 1 H), 7.74 (d, J = 7.7 Hz, 1 H), 5.27 (s, 2 H), 2.28 (s, 3 H).

(実施例 26)

2-(N-(2-(((tert-Butoxy)carbonylamino)ethyl)-2-(5-acetylamino-1,3-dioxo-1H-benz[de]isoquinoline-2(3H))acethylamino)acetic acid NI(NHAc)-^{Boc}PNA-OHの合成

NI(NHAc)-OPfp (140 mg, 0.29 mmol) と ^{Boc}PNA-OH (67 mg, 0.30 mmol) の DMF溶液 (5 mL) に diisopropylethylamine (54 μL, 0.30 mmol) を加え、室温で 15 時間攪拌した。これを減圧濃縮し残渣をシリカゲルカラムクロマト法 (2-20% MeOH/CHCl₃) により精製し NI(NHAc)-^{Boc}PNA-OH (117 mg, 85%) を得た。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.4 - 7.3 (m, 5 H), 5.05 (brs) and 4.90 (brs) (2 H), 3.76 (brs) and 3.54 (brs) (2 H), 3.64 (s) and 3.49 (s) (2 H), 3.54 (brs) and 3.41 (brs) (2 H), 2.15 (s) and 2.04 (s) (3 H), 1.48 (s) and 1.45 (s) (9 H).

(実施例 27)

Succinimidyl N-4-Dimethylaminoazobenzene-3'-carbonate m-MR-OSuの合成

m-Methyl Red (m-MR-OH; 110 mg, 0.41 mmol)と N-hydroxysuccinimide (60 mg, 0.52 mmol)のDMF溶液 (7 mL) にDCC (100 mg, 0.50 mmol)を0°Cで加え、この反応液を30分したあと室温で15時間攪拌した。この反応液をろ過し、減圧蒸留して、残渣をカラムクロマトグラフィー (CH₂Cl₂) に付して、橙色粉末として m-MR-0

su (124 mg; 82%) を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 8.59 (s, 1 H), 8.13 (t, J = 9.1 Hz, 2 H), 7.90 (d, J = 9.1 Hz, 2 H), 7.61 (t, J = 7.9 Hz, 1 H), 6.77 (d, J = 9.1 Hz, 2 H), 3.11 (s, 6 H), 2.93 (brs, 4 H).

(実施例 28)

2-(*N*-(2-((*tert*-Butoxy)carbonylamino)ethyl)-2-(4-dimethylaminoazobenzene-3'-carbonylamino)acethylamino)acetic acid *m*-MR-Gly-^{Boc}PNA-OH の合成

Gly-^{Boc}PNA-OH (50 mg, 0.18 mmol) の DMF 溶液 (10 mL) に *m*-MR-OSu (73 mg, 0.20 mmol) と triethylamine (350 μL, 2.7 mmol) を順番に加え、室温で 15 時間攪拌した。反応終了後減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (0-10% MeOH/dichloromethane) に付し、橙色粉末として *m*-MR-Gly-^{Boc}PNA-OH (95 mg, 100%) を得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 8.26 (s, 1 H), 7.92 (d, J = 7.6 Hz, 2 H), 7.83 (d, J = 9.1 Hz, 2 H), 7.62 (t, J = 7.6 Hz, 1 H), 6.88 (brt) and 6.74 (brt) (1 H), 6.85 (d, J = 9.1 Hz, 2 H), 4.22 (d, J = 2.7 Hz, 2 H), 3.99 (s) and 3.89 (s) (2 H), 3.44 (t, J = 6.4 Hz, 1 H), 3.4-3.25 (brs, 4 H), 3.07 (s, 6 H), 1.39 (s) and 1.37 (s) (9 H).

(実施例 29)

2-(*N*-(2-((*tert*-Butoxy)carbonylamino)ethyl)-*N'* -((1-pyrenyl-*n*-butyl)glycyl))acetic acid Pyrene-Gly-^{Boc}PNA-OH の合成

Gly-^{Boc}PNA-OH (25 mg, 0.09 mmol) の DMF 溶液 (5 mL) に Pyrene-OSu (39 mg, 0.10 mmol) と triethylamine (138 μL, 1.0 mmol) を順番に加え、室温で 15 時間攪拌した。反応終了後減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (0-10% MeOH/dichloromethane) に付し、淡黄色粉末として Pyrene-Gly-^{Boc}PNA-OH (30 mg, 61%) を得た。HRMS (FAB⁺) calcd for C₃₁H₃₅O₆N₃Na [(M+Na)⁺] 568.2526, observed 568.2429.

(実施例 30)

2-(*N*-(2-((*tert*-Butoxy)carbonylamino)ethyl)-2-(7-diethylaminocoumarin-3-carbonyl)glycyl)acetic acid Coumarin-Gly-^{Boc}PNA-OH の合成

Gly-^{Boc}PNA-OH (12.7 mg, 0.046 mmol) の DMF 溶液 (5 mL) に coumarin-OSu (15 mg, 0.042 mmol) と triethylamine (55.5 μL, 0.4 mmol) を順番に加え、室温

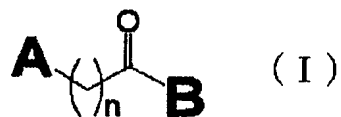
で15時間攪拌した。反応終了後減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (0-20% MeOH/dichloromethane) に付し、黄色粉末としてCoumarin-Gly-^{Boc}PNA-OH (23 mg, 100%) を得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 8.68 (s) and 8.66 (s) (1 H), 7.70 and 7.69 (each d, J = 9.1 Hz) (1 H), 6.89 (brt) and 6.75 (brt) (1 H), 6.80 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 6.62 (s, 1 H), 4.25 (brd) and 4.07 (brd) (2 H), 4.13 (m, 1 H), 3.98 (s) and 3.89 (s) (2 H), 3.48 (q, J = 6.8 Hz, 4 H), 3.35 (m, 2 H), 3.13 (brq) and 3.07 (brq) (2 H), 1.37 (s) and 1.36 (s) (9 H), 1.14 (t, J = 6.8 Hz, 6 H).

産業上の利用可能性

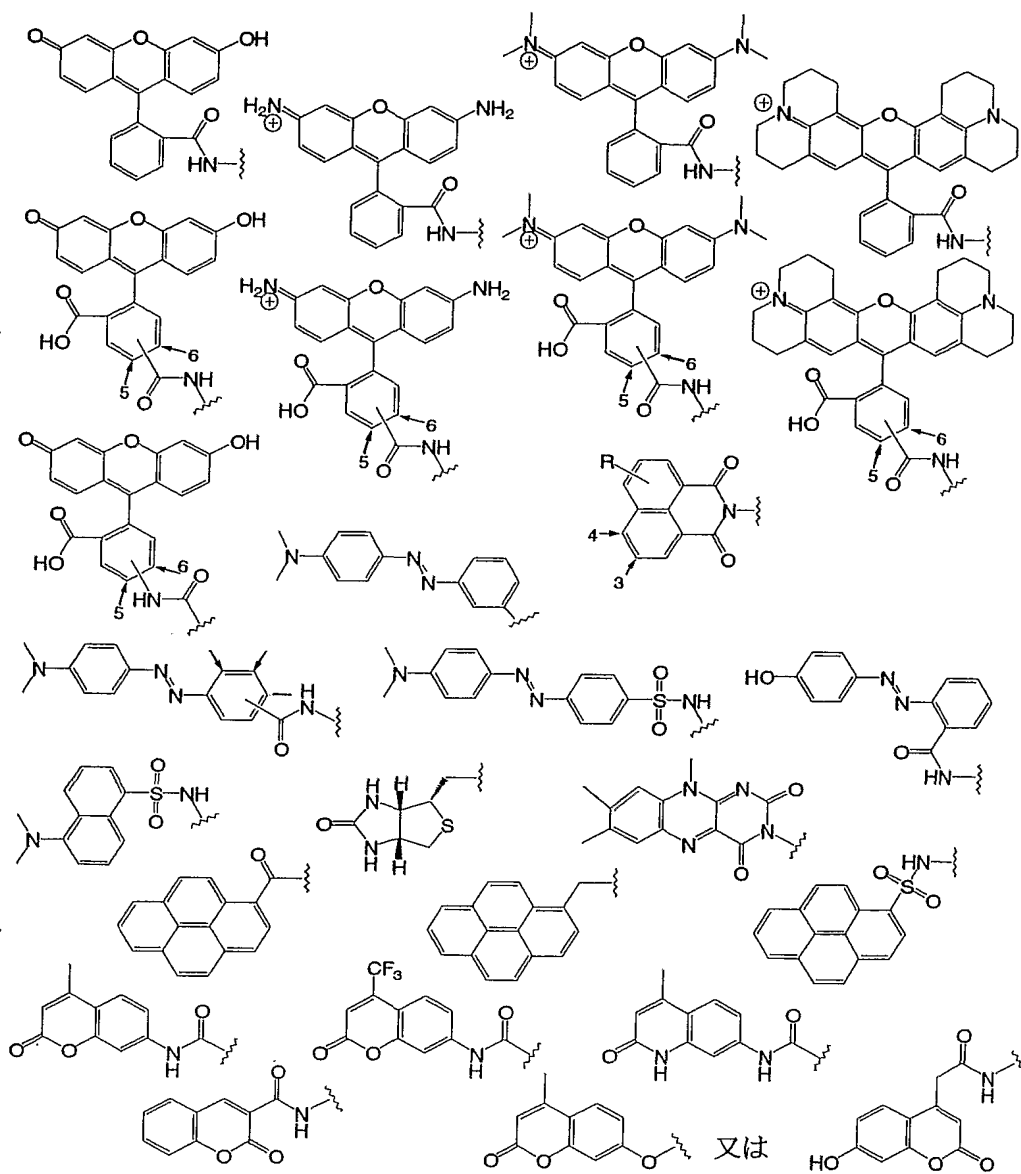
本発明による新規な機能性PNAモノマーは、遺伝子治療などに用いられるPNAの構築に用いることができる。また、本発明によれば、機能性PNAモノマーの、互いに相補的な2つの合成ルートB及びCによって、機能性分子のPNAへの効率的な導入が可能になる。したがって、本発明は、Boc型モノマーユニットあるいはベンジルオキシカルボニル- ω -アミノ酸誘導体を用いた、機能性PNAモノマーユニットの工業的合成等の産業において利用することができる。

請求の範囲

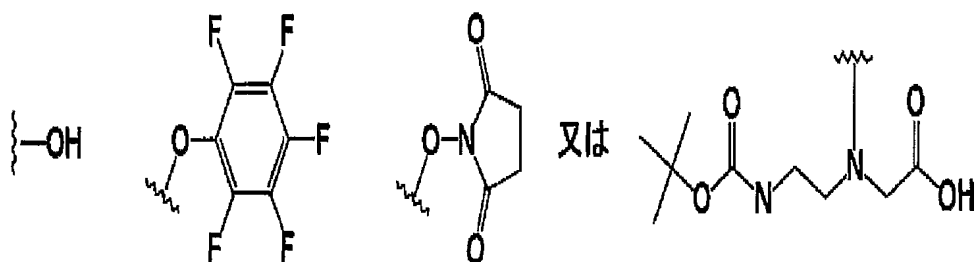
1. 下記一般式 (I)



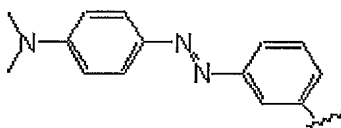
(式中、Aは



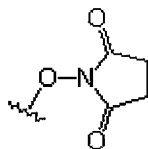
であり、Bは



であり、RはH、NO₂、NH₂、NHCBz、Br、F、ClまたはSO₃Na₂であり、nは1～4の整数である。ただし、Aが



である場合、Bは



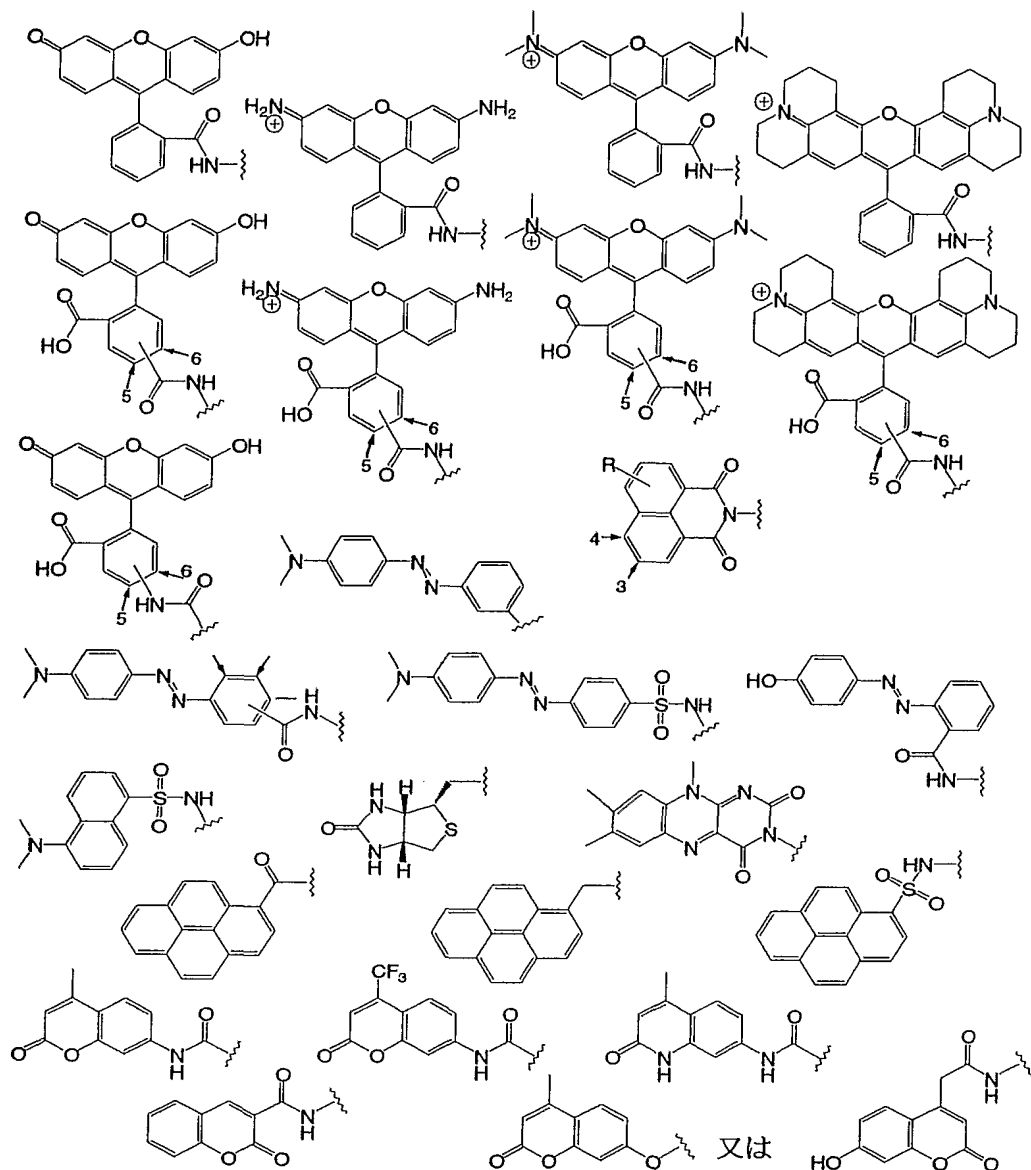
である)で表される化合物。

2. t-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンを機能性分子の誘導体と反応させ、機能性分子をPNAモノマーに導入することよりなる機能性PNAモノマーの製造方法であって、該機能性分子の誘導体が活性エステルであることを特徴とする、前記製造方法。

3. 活性エステルが、下記一般式 (II)



(式中、Aは



であり、RはH、NO₂、NH₂、NHCBz、Br、F、ClまたはSO₃Na₂であり、nは1～4の整数である)

で表される基を、エステル結合を形成するカルボニル炭素に有することを特徴とする、請求項2に記載の製造方法。

4. 活性エステルが、ペンタフルオロフェノキシ基またはスクシンイミドオキシ基をカルボニル炭素に有することを特徴とする、請求項2または3に記載の製造方法。

5. 請求項3に記載の活性エステルを製造する方法であって、機能性分子のカル

ボン酸誘導体と、ペンタフルオロフェノキシ基またはスクシンイミドオキシ基を有する化合物との反応を含むことを特徴とする、前記方法。

6. 請求項5に記載の機能性分子のカルボン酸誘導体を製造する方法であって、機能性分子の誘導体と脂肪族カルボン酸との反応を含むことを特徴とする、前記方法。

7. 機能性分子から該機能性分子の誘導体を製造し、該機能性分子の誘導体から機能性分子のカルボン酸誘導体を製造し、該機能性分子のカルボン酸誘導体から活性エステルを製造し、該活性エステルから機能性PNAモノマーを製造することを含む、機能性分子から機能性PNAモノマーを製造する方法において、下記a)～c)：

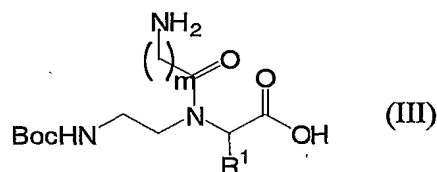
a) 前記機能性分子のカルボン酸誘導体の製造において、機能性分子の誘導体と脂肪族カルボン酸とを反応させること；

b) 前記活性エステルの製造において、機能性分子のカルボン酸誘導体とペンタフルオロフェノキシ基またはスクシンイミドオキシ基を有する化合物とを反応させること；および、

c) 前記機能性PNAモノマーの製造において、t-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンを、活性エステルである機能性分子の誘導体と反応させること；

の1または2以上を含むことを特徴とする、前記方法。

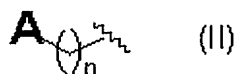
8. 一般式 (III)



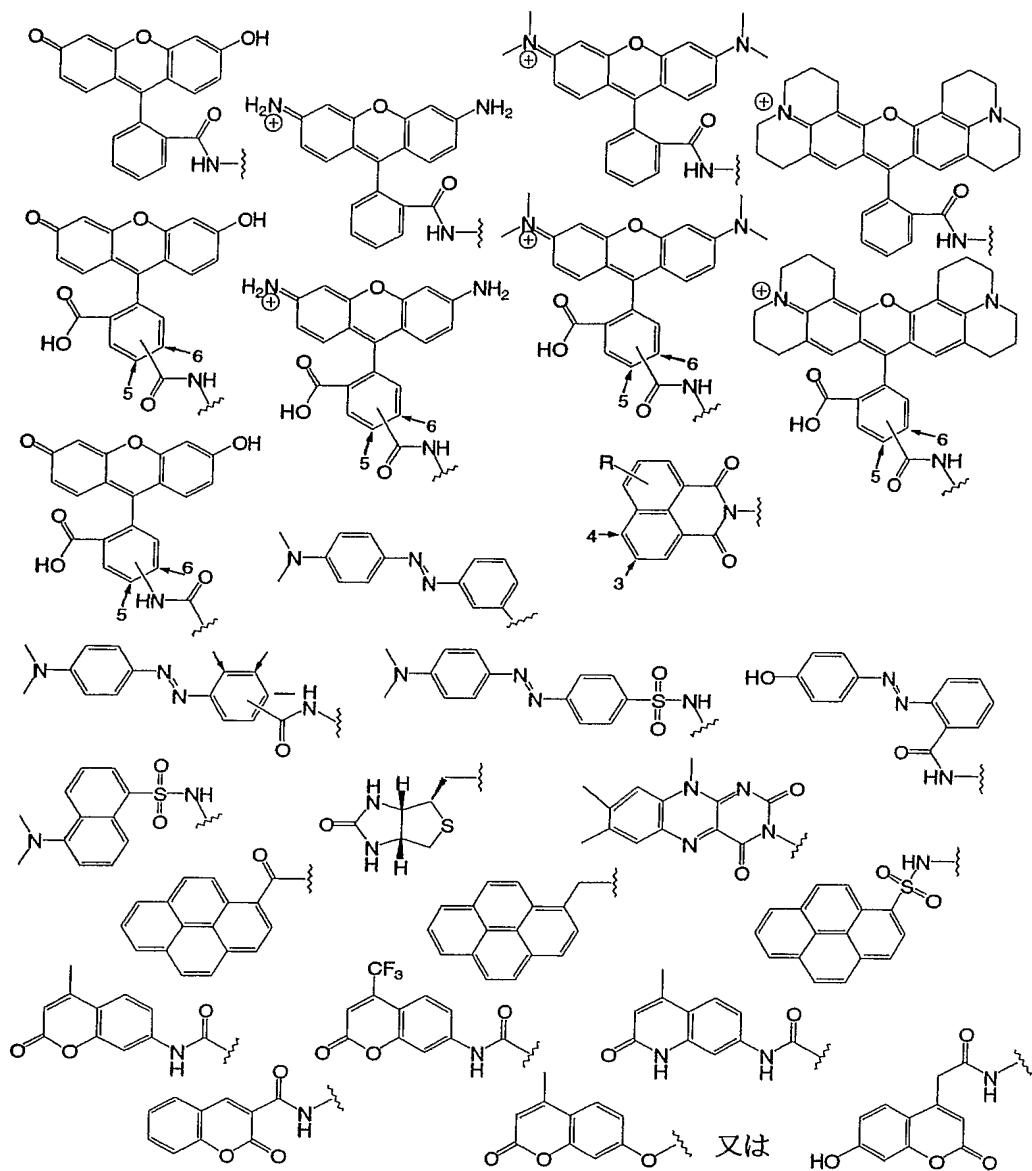
(式中、R¹は水素原子または炭素数1～5の直鎖若しくは分枝鎖状のアルキル基、mは1～11の整数を表す)

で表されるω-アミノ酸誘導体を機能性分子の誘導体と反応させ、機能性分子をPNAモノマーに導入することよりなる機能性PNAモノマーの製造方法であって、該機能性分子の誘導体が活性エステルであることを特徴とする、前記製造方法。

9. 活性エステルが、下記一般式 (II)



(式中、Aは



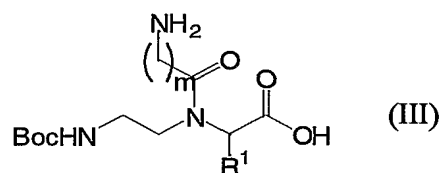
であり、RはH、NO₂、NH₂、NHCBz、Br、F、ClまたはSO₃Na₂であり、nは1～4の整数である)

で表される基を、直接または脂肪鎖あるいはペプチド鎖を介して、エステル結合を形成するカルボニル基に有することを特徴とする、請求項8に記載の製造方法

。

10. 活性エステルが、ペンタフルオロフェノキシ基またはスクシンイミドオキシ基をカルボニル炭素に有することを特徴とする、請求項8または9に記載の製造方法。

11. 機能性分子から活性エステルを製造し、該活性エステルから機能性PNAモノマーを製造すること含む、機能性分子から機能性PNAモノマーを製造する方法において、前記機能性分子からの活性エステルの製造が、m-メチルレッドとスクシンイミドオキシ基を含む化合物とを反応させること、および／または前記活性エステルから機能性PNAモノマーの製造が、一般式(III)



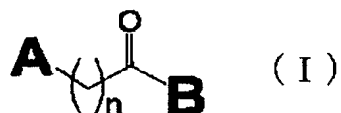
(式中、 R^1 は水素原子または炭素数1～5の直鎖若しくは分枝鎖状のアルキル基、 m は1～11の整数を表す)

で表される ω -アミノ酸誘導体を、活性エステルである機能性分子の誘導体と反応させ、機能性分子をPNAモノマーに導入すること、を含むこと特徴とする、前記方法。

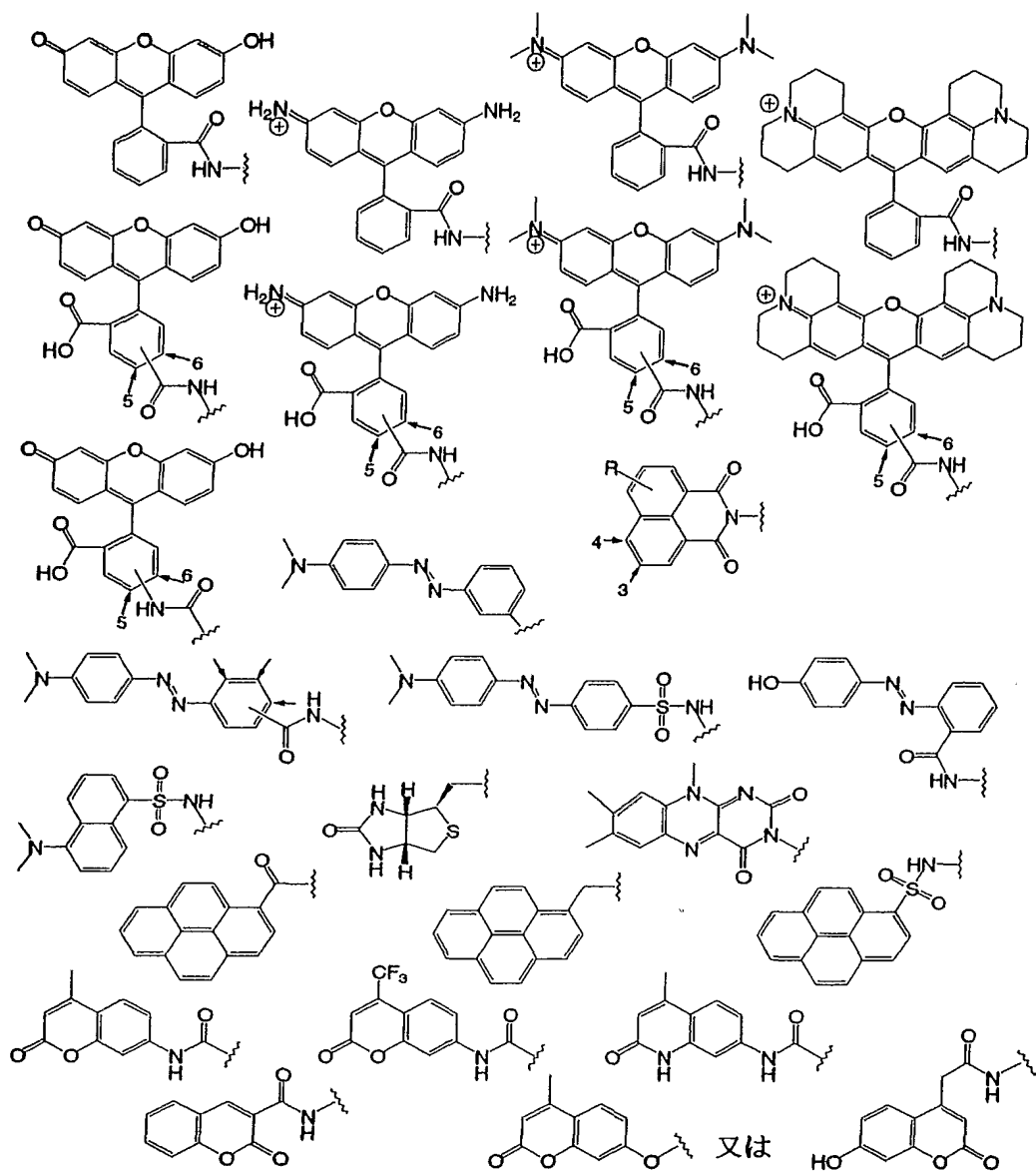
補正書の請求の範囲

[2002年4月26日 (26. 04. 02) 国際事務局受理：出願当初の請求の範囲
1-11は取り下げられた；新しい請求の範囲12-48が加えられた。(13頁)]

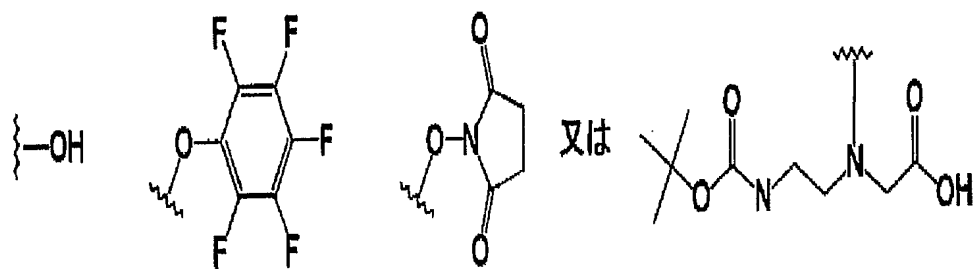
1. (削除)
2. (削除)
3. (削除)
4. (削除)
5. (削除)
6. (削除)
7. (削除)
8. (削除)
9. (削除)
10. (削除)
11. (削除)
12. (追加) 下記一般式 (I)



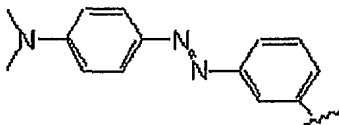
(式中、Aは



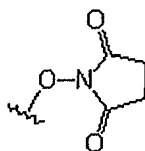
であり、Bは



であり、RはH、NO₂、NH₂、NHCBz、Br、F、ClまたはSO₃Naであり、nは1～4の整数である。ただし、Aが



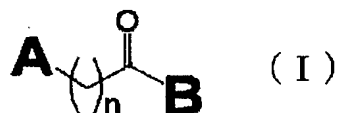
である場合、Bは



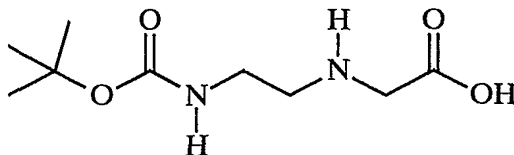
である)で表される化合物。

13. (追加) t-ブトキシカルボニルアミノエチルアミン誘導体を機能性分子の誘導体と反応させ、機能性分子をPNAモノマーに導入することよりなる機能性PNAモノマーの製造方法であって、該機能性分子の誘導体が活性エステルであることを特徴とする、前記製造方法。

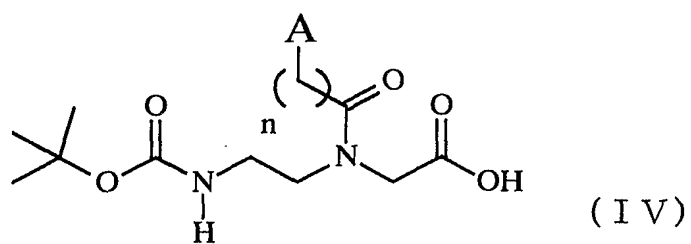
14. (追加) 活性エステルが、下記一般式 (I)



(式中、AはFAM、rhodamine、dansyl、psoralen、dabcyl、chromane、pyrene、naphthalimide、flavin、HABA、coumarinおよびbiotinから選択され、BはペンタフルオロフェニルまたはN-ヒドロキシスクシンイミドであり、そしてnは1～4の整数である)で表される光機能性分子の誘導体であり、t-ブトキシカルボニルアミノエチルアミン誘導体が、下記式



で表され、機能性PNAモノマーが、下記一般式 (IV)

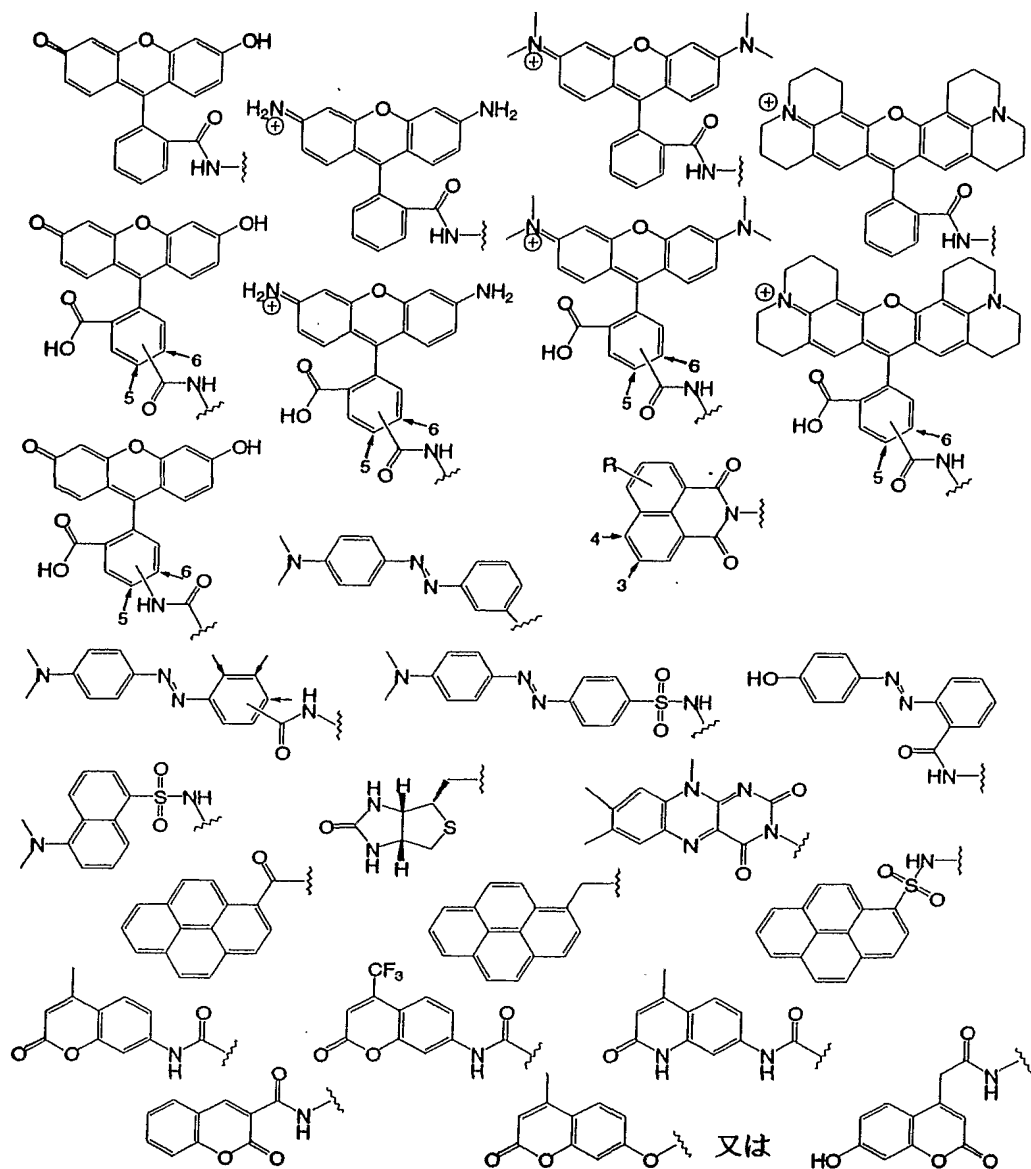


(式中、Aおよびnは前記の意味を表す)で表される、請求項13に記載の製造方法。

15. (追加)活性エステルが、下記一般式 (II)



(式中、Aは



であり、RはH、NO₂、NH₂、NHCBz、Br、F、ClまたはSO₃Naであり、nは1～4の整数である)

で表される基を、エステル結合を形成するカルボニル炭素に有することを特徴とする、請求項13に記載の製造方法。

16. (追加)活性エステルが、ペンタフルオロフェノキシ基またはスクシンイミドオキシ基をカルボニル炭素に有することを特徴とする、請求項15に記載の製造方法。

17. (追加)n = 1であることを特徴とする、請求項14または15に記載の製造方法。

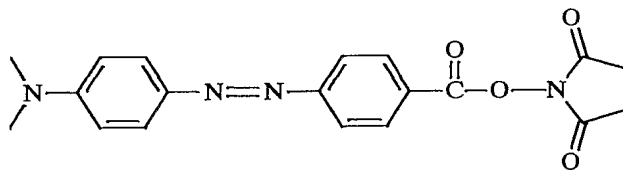
18. (追加)Aが flavin であることを特徴とする、請求項14に記載の製造方法。

19. (追加)Aが FAM であることを特徴とする、請求項14に記載の製造方法。

20. (追加)Aが rhodamine であることを特徴とする、請求項14に記載の製造方法。

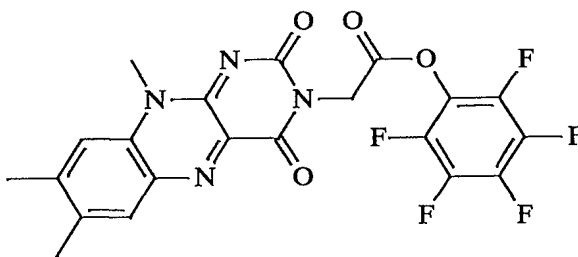
21. (追加)Aが dabcy1 であり、BがN-ヒドロキシスクシンイミドであることを特徴とする、請求項14に記載の製造方法。

22. (追加)光機能性分子の誘導体が、下記式



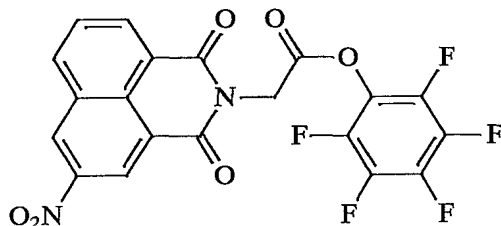
で表される構造を有する、請求項14に記載の方法。

23. (追加)光機能性分子の誘導体が、下記式で表される構造：



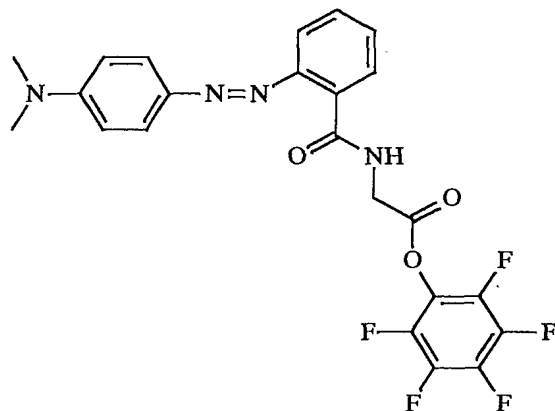
で表される構造を有する、請求項14に記載の製造方法。

24. (追加)光機能性分子の誘導体が、下記式



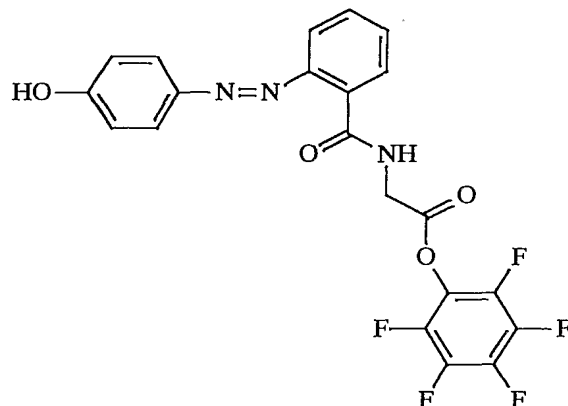
で表される構造を有する、請求項 1 4 に記載の製造方法。

25. (追加)光機能性分子の誘導体が、下記式



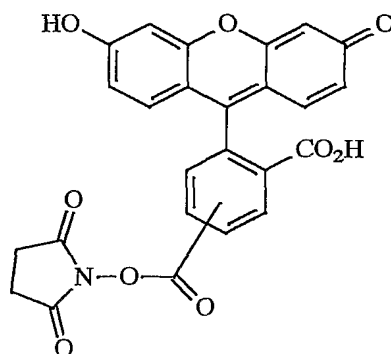
で表される構造を有する、請求項 1 4 に記載の製造方法。

26. (追加)光機能性分子の誘導体が、下記式



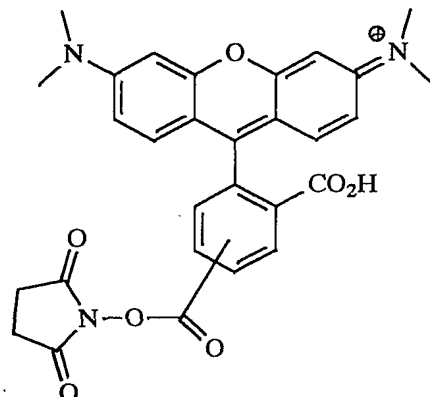
で表される構造を有する、請求項 1 4 に記載の製造方法。

27. (追加)光機能性分子の誘導体が、下記式



で表される構造を有する、請求項 1 4 に記載の製造方法。

28. (追加)光機能性分子の誘導体が、下記式



で表される構造を有する、請求項14に記載の製造方法。

29. (追加)請求項13に記載の活性エステルを製造する方法であって、機能性分子のカルボン酸誘導体と、ペンタフルオロフェノキシ基またはスクシンイミドオキシ基を有する化合物との反応を含むことを特徴とする、前記方法。

30. (追加)請求項29に記載の機能性分子のカルボン酸誘導体を製造する方法であって、機能性分子の誘導体と脂肪族カルボン酸との反応を含むことを特徴とする、前記方法。

31. (追加)機能性分子から該機能性分子の誘導体を製造し、該機能性分子の誘導体から機能性分子のカルボン酸誘導体を製造し、該機能性分子のカルボン酸誘導体から活性エステルを製造し、該活性エステルから機能性PNAモノマーを製造することを含む、機能性分子から機能性PNAモノマーを製造する方法において、下記a)～c)：

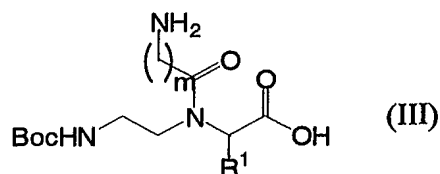
a) 前記機能性分子のカルボン酸誘導体の製造において、機能性分子の誘導体と脂肪族カルボン酸とを反応させること；

b) 前記活性エステルの製造において、機能性分子のカルボン酸誘導体とペンタフルオロフェノキシ基またはスクシンイミドオキシ基を有する化合物とを反応させること；および、

c) 前記機能性PNAモノマーの製造において、*t*-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンを、活性エステルである機能性分子の誘導体と反応させること；

の1または2以上を含むことを特徴とする、前記方法。

32. (追加)一般式 (III)



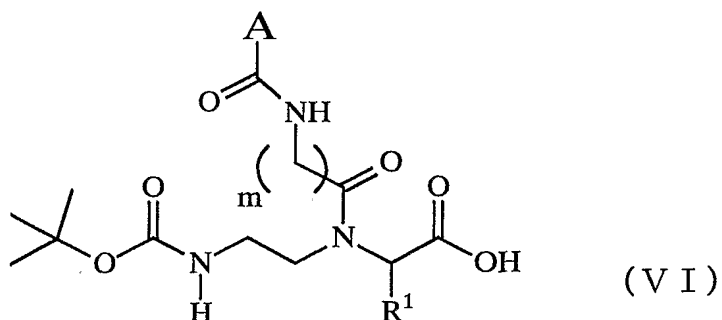
(式中、 R^1 は水素原子または炭素数1～5の直鎖若しくは分枝鎖状のアルキル基、 m は1～11の整数を表す)

で表される ω -アミノ酸誘導体を機能性分子の誘導体と反応させ、機能性分子をPNAモノマーに導入することよりなる機能性PNAモノマーの製造方法であって、該機能性分子の誘導体が活性エステルであることを特徴とする、前記製造方法。

33. (追加)活性エステルが、下記一般式 (V)



(式中、AはFAM、rhodamine、dansyl、psoralen、dabcyl、chromane、pyrene、naphthalimide、flavin、HABA、coumarinおよびbiotinから選択され、BはペンタフルオロフェニルまたはN-ヒドロキシスクシンイミドであり、そして n は1～4の整数である)で表される光機能性分子誘導体であり、機能性PNAモノマーが、下記一般式 (VI)



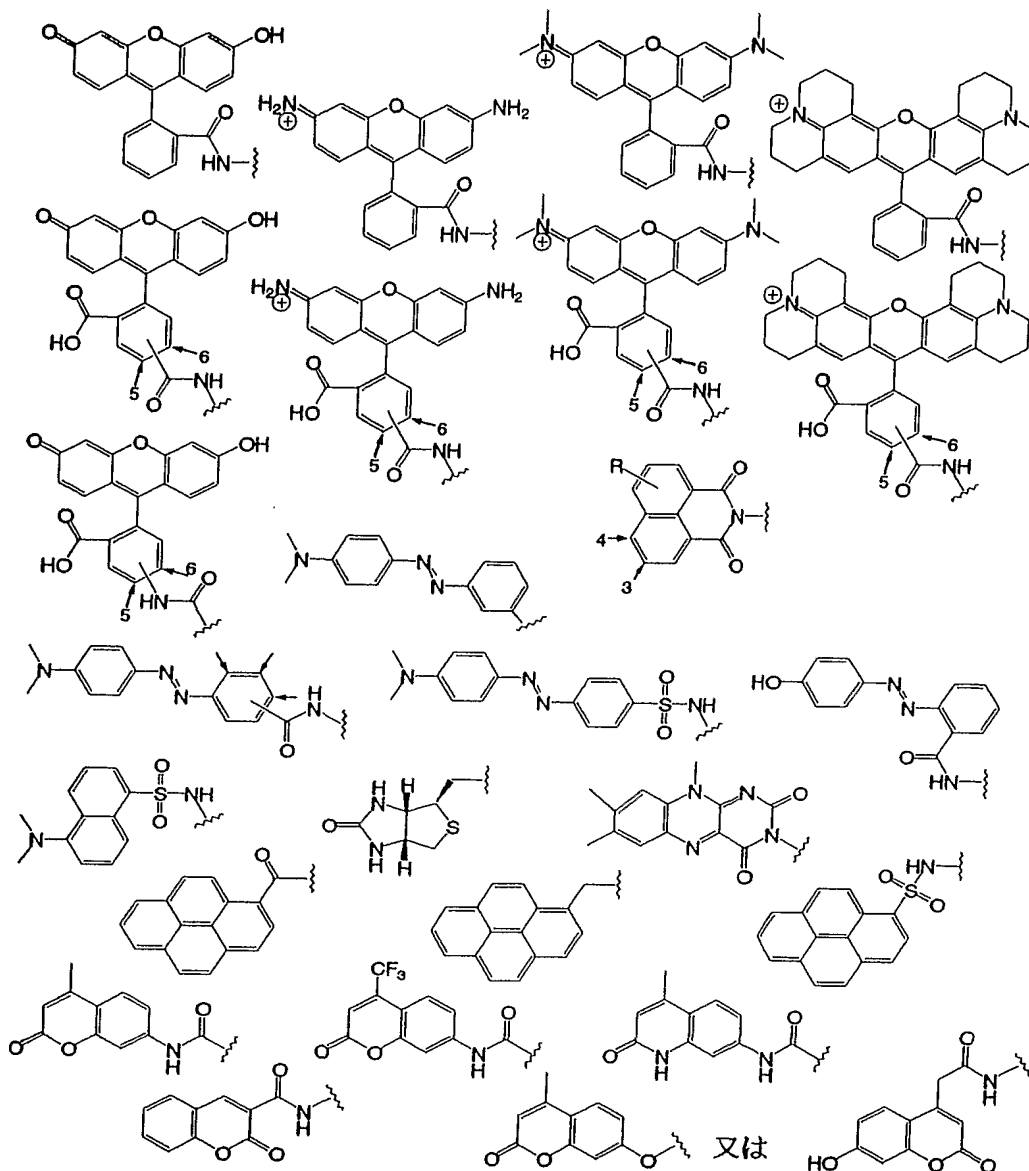
(式中、A、 R^1 および m は、前記にの意を表す)

で表される、請求項32に記載の製造方法。

34. (追加)活性エステルが、下記一般式 (I I)



(式中、Aは



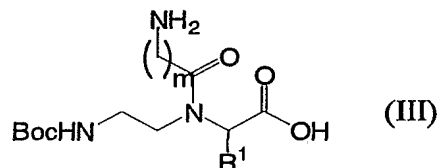
であり、RはH、NO₂、NH₂、NHCOCH₃、Br、F、ClまたはSO₃Na
であり、nは1～4の整数である)

で表される基を、直接または脂肪鎖あるいはペプチド鎖を介して、エステル結合を形成するカルボニル基に有することを特徴とする、請求項 32 に記載の製造方

法。

35. (追加)活性エステルが、ペンタフルオロフェノキシ基またはスクシンイミドオキシ基をカルボニル炭素に有することを特徴とする、請求項34に記載の製造方法。

36. (追加)機能性分子から活性エステルを製造し、該活性エステルから機能性PNAモノマーを製造すること含む、機能性分子から機能性PNAモノマーを製造する方法において、前記機能性分子からの活性エステルの製造が、m-メチルレッドとスクシンイミドオキシ基を含む化合物とを反応させること、および/または前記活性エステルから機能性PNAモノマーの製造が、一般式(III)



(式中、R¹は水素原子または炭素数1～5の直鎖若しくは分枝鎖状のアルキル基、mは1～11の整数を表す)

で表されるω-アミノ酸誘導体を、活性エステルである機能性分子の誘導体と反応させ、機能性分子をPNAモノマーに導入すること、を含むこと特徴とする、前記方法。

37. (追加)m=1であることを特徴とする、請求項33または34に記載の製造方法。

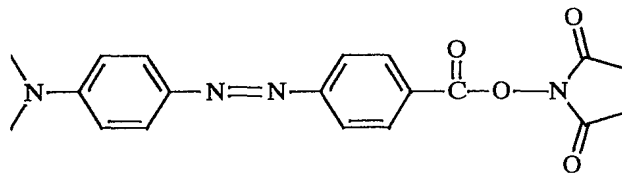
38. (追加)Aがflavinであることを特徴とする、請求項33に記載の製造方法。

39. (追加)AがFAMであることを特徴とする、請求項33に記載の製造方法。

40. (追加)Aがrhodamineであることを特徴とする、請求項33に記載の製造方法。

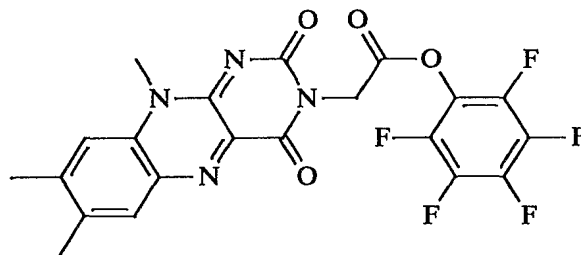
41. (追加)Aがdabcylであり、BがN-ヒドロキシスクシンイミドであることを特徴とする、請求項33に記載の製造方法。

4 2 . (追加)光機能性分子が、下記式



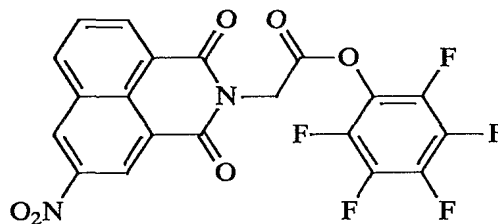
で表される構造を有する、請求項 3 3 に記載の製造方法。

4 3 . (追加)光機能性分子が、下記式



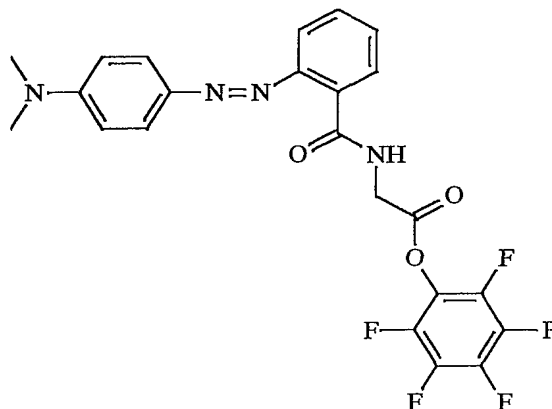
で表される構造を有する、請求項 3 3 に記載の製造方法。

4 4 . (追加)光機能性分子が、下記式



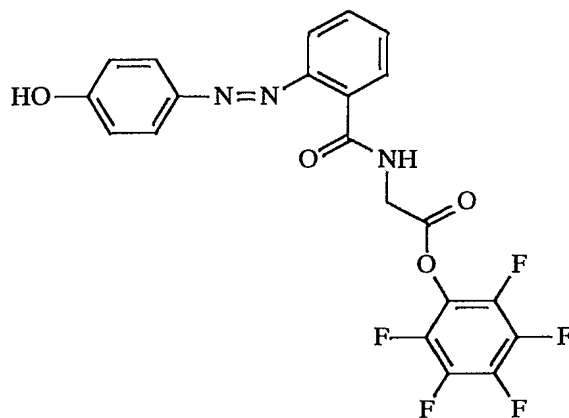
で表される構造を有する、請求項 3 3 に記載の製造方法。

4 5 . (追加)光機能性分子が、下記式



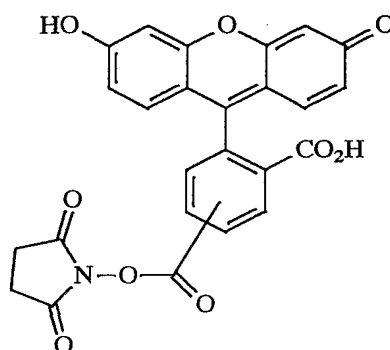
で表される構造を有する、請求項 3 3 に記載の製造方法。

46. (追加)光機能性分子が、下記式



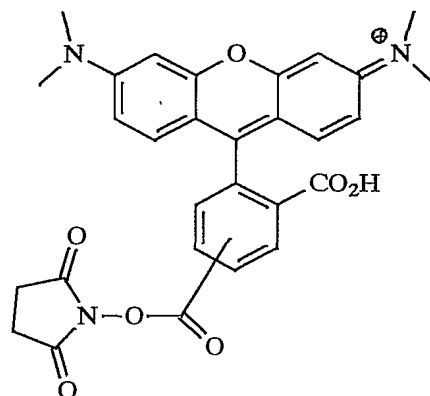
で表される構造を有する、請求項33に記載の製造方法。

47. (追加)光機能性分子が、下記式



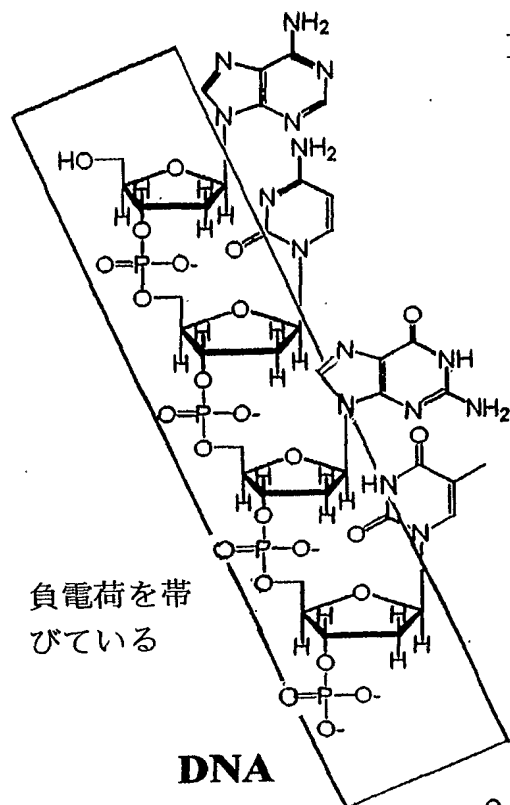
を有する、請求項33に記載の製造方法。

48. (追加)光機能性分子が、下記式



で表される構造を有する、請求項33に記載の製造方法。

Fig. 1



ペプチド核酸(PNA)

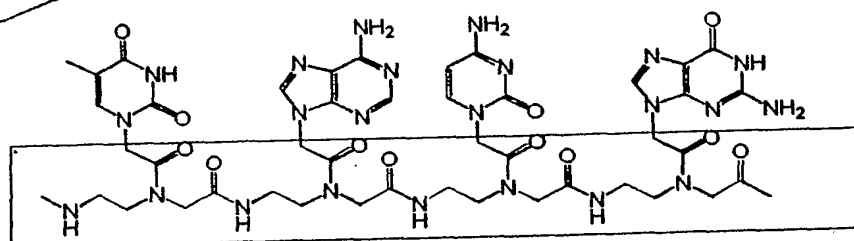
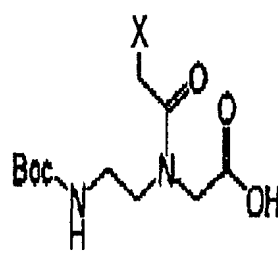
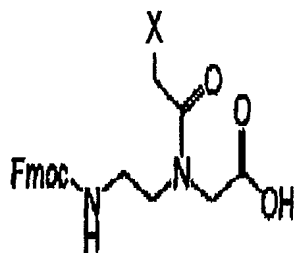


Fig. 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/08120

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07C245/08, 269/06, 271/20, C07D221/14, 311/08, 311/12, 311/80,
475/14, 491/22, 495/04 // C09B69/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07C, C07D, C07K, C09B, C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 98/37232 A2 (Georgia Tech Research Corporation), 27 August, 1998 (27.08.1998), Claims; pages 12 to 25; Figs. 8 to 11 & EP 968309 A2 & US 6117973 A & US 6225052 B1	1 3-6, 8-11
X Y	WO 92/20702 A1 (BUCHARDT, Ole et al.), 26 November, 1992 (26.11.1992), Claims; working examples 2 to 5; Fig. 6 & EP 586474 A1 & JP 6-506945 A & US 5714331 A & US 5736336 A & US 5766855 A & US 5786461 A & US 5977296 A & EP 1074559 A1 & US 6201103 B1	2, 7 3-6, 8-11

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
28 November, 2001 (28.11.01)

Date of mailing of the international search report
11 December, 2001 (11.12.01)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/08120

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The special technical feature common to claims 1, 4-6, 10, and 11 (hereinafter referred to as "invention group (A)") is "a compound represented by the general formula (I)."

The special technical feature common to claims 2, 3, and 7-9 (hereinafter referred to as "invention group (B)") is "to react a functional molecule in the form of an active ester when the functional molecule is introduced into a PNA monomer."

There is hence no special technical feature common to invention group (A) and invention group (B). Therefore, these two invention groups are not considered to be so linked as to form a single general inventive concept.

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl. ⁷ C07C245/08, 269/06, 271/20, C07D221/14, 311/08, 311/12, 311/80, 475/14, 491/22, 495/04 // C09B69/10		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl. ⁷ C07C, C07D, C07K, C09B, C12N		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	WO 98/37232 A2 (GEORGIA TECH RESEARCH CORPORATION) 27.8月.1998 (27.08.98) 特許請求の範囲, 第12-25頁, 図8-11 &EP 968309 A2 &US 6117973 A &US 6225052 B1	1 3-6, 8-11
X Y	WO 92/20702 A1 (BUCHARDT, Ole et al.) 26.11月.1992 (26.11.92) 特許請求の範囲, 実施例2-5, 図6 &EP 586474 A1 &JP 6-506945 A &US 5714331 A &US 5736336 A &US 5766855 A &US 5786461 A &US 5977296 A &EP 1074559 A1 &US 6201103 B1	2, 7 3-6, 8-11
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 28.11.01	国際調査報告の発送日 11.12.01	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 爾見 武志	4 H 9 5 4 7
電話番号 03-3581-1101		内線 3443

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1, 4-6, 10, 11 (以下「発明群A」という。)に共通する特別な技術的特徴は、「一般式(I)で表される化合物」である。

請求の範囲2, 3, 7-9 (以下「発明群B」という。)に共通する特別な技術的特徴は、「機能性分子をPNAモノマーに導入するときに、機能性分子を活性エステルとして反応させること」である。

よって、発明群Aと発明群Bとに共通する特別な技術的特徴はないから、これら2発明群は、単一の一般的発明概念を形成するように連関しているとはいえない。

1. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☒ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。